

**EFEITO DO ESTRADIOL, DIETAS E
DURAÇÃO DO PERÍODO SECO SOBRE O
DESEMPENHO E FISIOLOGIA DE VACAS
HOLANDESAS**

LUCIA DE FÁTIMA ANDRADE CORREIA TEIXEIRA

2001

MFN-87164

LUCIA DE FÁTIMA ANDRADE CORREIA TEIXEIRA

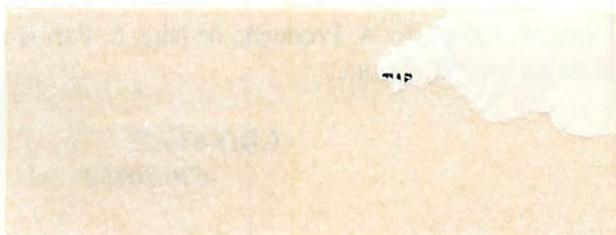
EFEITO DO ESTRADIOL, DIETA E DURAÇÃO DO PERÍODO SECO SOBRE O DESEMPENHO E FISIOLOGIA DE VACAS HOLANDESAS

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Ruminantes, para a obtenção do título de "Doutor".

Orientador

Prof. Juan Ramon Olalquiaga Perez

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
JUNHO - 2001



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

Teixeira, Lucia de Fatima Andrade Correia

Efeito do estradiol, dieta e duração do período seco sobre o desempenho e fisiologia de vacas holandesas / Lucia de Fátima Andrade Correia Teixeira. --

Lavras : UFLA, 2001.

150 p. : il.

Orientador: Juan Ramon Olalquiaga Perez.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Estradiol. 2. Dieta aniônica. 3. Pré-parto. 4. Produção de leite. 5. Período seco. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-636.23

-636.20852

LUCIA DE FÁTIMA ANDRADE CORREIA TEIXEIRA

EFEITO DO ESTRADIOL, DIETA E DURAÇÃO DO PERÍODO SECO SOBRE O DESEMPENHO E FISIOLOGIA DE VACAS HOLANDESAS

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Ruminantes, para a obtenção do título de “Doutor”.

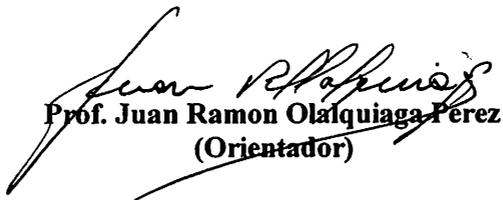
Aprovada em 29 de maio de 2001

Prof. H. Herbert Head - University of Florida

Prof. José Camisão de Souza – DZO/UFLA

Prof. Joel Augusto Muniz – DEX/UFLA

Prof. Paulo César de Aguiar Paiva – DZO/UFLA



Prof. Juan Ramon Olalquiaga Perez
(Orientador)

**LAVRAS
MINAS GERAIS-BRASIL**

A meus filhos Petrus e Giulia, que souberam
entender minha ausência na busca desta
conquista

DEDICO

Aos meus pais Mário dos Santos Correia e Maria
Aparecida Andrade e minha avó Maria Vicentina de Paula e
acima de tudo a Deus, o qual tem iluminado meu caminho

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A todos aqueles que têm me incentivado, ajudado e compreendido, de maneira direta ou indireta, e que, involuntariamente, não foram incluídos nestes agradecimentos.

Ao Professor Herb Herbert Head pelo incentivo, amizade, apoio e orientação.

Ao Prof. Juan Ramon Olalquiaga Perez pela orientação, compreensão, ensinamentos e encorajamento.

Ao Professor José Camisão de Souza pela ajuda constante, amizade e colaboração

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

Ao meu professor e marido, Júlio César Teixeira, pelo brilhantismo e valiosos ensinamentos no decorrer do curso.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo e aos seus funcionários pela presteza.

Ao Professores Daniel Furtado e Joel Augusto Muniz pela paciência e atenção dispensada às consultas estatísticas.

Ao coordenador do curso de Pós-Graduação, Professor Elias Tadeu Fialho.

Aos gerentes Daily, David Armstrong, Mary Russel e a todos os funcionários da Unidade Experimental de Gado de Leite da Universidade da Flórida e aos funcionários Alex, Karen e James.

Aos secretários, Mary Ellen, Carlos Henrique de Souza, Mariana Cornélio, Keila Cristina de Oliveira e Pedro Adão Pereira e funcionários da secretaria de Pró-Reitoria de Pós-Graduação pelo apoio prestado.

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal do DZO da UFLA, Márcio dos Santos Nogueira, Suelba Ferreira de Souza, Eliana Maria dos Santos, e do Laboratório da UFL, Joyce Haigen pelos ensinamentos laboratorais e aos funcionários da Biblioteca Central da UFLA pela colaboração e assistênica constantes.

Aos professores do Departamento de Zootecnia, Aloísio Ricardo Pereira, Antônio Ricardo Evangelista, Paulo César Paiva e Idalmo, e da UFL, Mary Hall e Charles Staples pelo incentivo

A todos os meus colegas do curso de Pós-Graduação, em especial a Roseli Aparecida dos Santos, Maria Emília Gomes Pimenta, Márcio Liboni, Thomas Belloso, Mathew Schairer, Alexandre, David, Ricardo Matos, Fabíola, Flávia, Raimundo, Iraídes, Eleuza, Flávio, Ingrid, Edgar e Euclides, destacando a preciosa ajuda de Sidney Tavares dos Reis.

A Francine Cuquel, meus mais sinceros agradecimentos, pelo apoio incondicional nos momentos mais difíceis.

Meus agradecimentos especiais a Mehmet Sukru Gulay pelos ensinamentos, disponibilidade e inestimável colaboração, e a Arthur Araujo pelo companheirismo e valiosa ajuda nos trabalhos de campo.

Aos meus irmãos, Lucinda Maria Andrade Correia e Luiz Henrique Andrade Correia e sobrinhos.

Às amigas Maria Auxiliadora Silveira, Maria das Graças Silva, Maria Gabriela, Janet Head, Luzia Evangelista e Helena Perez pela amizade e incentivo.

A Deus, meu orientador maior, aquele que não me abandona nunca,
ilumina minha existência e guia meus passos.

SUMÁRIO

ABREVIATURAS UTILIZADAS	i
RESUMO	ii
ABSTRACT	iv
CAPÍTULO I	1
1 INTRODUÇÃO GERAL	2
2 REFERENCIAL TEÓRICO	5
2.1 Febre do leite	5
2.2 Dieta Aniônica	8
2.2.1 Formulação de dietas usando diferença de cátions e ânions na dieta (DCAD)	10
2.2.2 Sais Aniônicos	11
2.2.3 Pesquisas com DCAD negativo no fim da gestação	12
2.3 Estradiol	13
2.4 Período seco: mudanças estruturais, morfológicas e duração.....	14
3 METODOLOGIA GERAL.....	16
3.1 Animais.....	16
3.2 Instalações.....	17
3.3 Rações Experimentais.....	18
3.4 Manejo e arraçamento.....	18
3.5 Tratamentos.....	19
3.6 Coletas e Medições.....	20
3.7 Delineamento estatístico.....	22
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24

CAPÍTULO II. Consumo de matéria seca.....	29
RESUMO.....	30
ABSTRACT	31
1 INTRODUÇÃO	33
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	36
2.1 Consumo.....	36
2.2 Escore corporal	37
2.3 Recomendações de consumo no período de transição.....	38
2.4 Dietas aniônicas e consumo.....	39
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
3.1 Animais	40
3.2 Instalações	41
3.3 Rações Experimentais.....	42
3.4 Manejo e arraçamento	43
3.5 Tratamentos	46
3.6 Delineamento estatístico	46
3.7 Análises experimentais e estatísticas	48
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1 Consumo no pré-parto	49
4.2 Consumo no pós-parto.....	56
5 CONCLUSÕES	61
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62
CAPÍTULOIII. PARÂMETROS SANGUÍNEOS.....	65
RESUMO	66
ABSTRACT	67
1 INTRODUÇÃO	68
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	70

2.1 Hematócritos (HEMA).....	70
2.2 Glicose (GLI)	71
2.3 Insulina (INS)	72
2.4 Proteínas plasmáticas (PP)	73
2.5 Ácidos graxos não esterificados (AGNE).....	74
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	76
3.1 Animais e dietas.....	76
3.2 Coleta de sangue, manuseio e estocagem.....	78
3.3 Determinação de hematócrito e proteína plasmática	78
3.4 Determinação de insulina	79
3.4.1 Obtenção de radioisótopo diluído.....	79
3.4.2 Ensaio.....	80
3.5 Determinação de ácido graxo não esterificado.....	82
3.5.1 Ensaio.....	82
3.5.2 Reagentes	82
3.5.3 Metodologia	82
3.5.4 Procedimentos.....	83
3.6 Método de determinação de glicose.....	83
3.6.1 Ensaio	83
3.6.2 Degradabilidade	83
3.6.3 Procedimentos.....	84
3.7. Delineamento Estatístico	84
3.8. Análises Estatísticas	86
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	87
5 CONCLUSÕES	96
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97
CAPÍTULO IV. PRODUÇÃO DE LEITE.....	101
RESUMO	102

ABSTRACT.....	104
1 INTRODUÇÃO	105
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	107
2.1 Dietas aniônicas.....	107
2.2 Lactação induzida.....	107
2.3 Efeitos sazonais sobre a produção de leite.....	108
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	110
3.1 Animais.....	110
3.2 Ordenhas.....	112
3.3 Delineamento estatístico.....	114
3.4 Análises experimentais e estatísticas.....	115
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	116
5 CONCLUSÕES.....	122
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	123
ANEXOS.....	126

ABREVIATURAS UTILIZADAS

- AGNE = Ácidos graxos não esterificados
CMS = Consumo de matéria seca
CNE = Carboidratos não estruturais
DA30 = Dieta aniônica e período seco de 30 dias
DA30E = Dieta aniônica e período seco de 30 dias e aplicação de estradiol
DA60 = Dieta aniônica e período seco de 60 dias
DC30 = Dieta catiônica e período seco de 30 dias
DC30E = Dieta catiônica e período seco de 30 dias e aplicação de estradiol
DC60 = Dieta catiônica e período seco de 60 dias
DCAD = Diferença cátion e ânion
ECC = Escore de condição corporal
ECP = Estradiol cipionato
EE = Extrato etéreo
EII = Energia líquida de lactação
Epm = Erro padrão da média
FCL = Fator de correção da gordura do leite
FDA = Fibra em detergente ácido
FDN = Fibra em detergente neutro
GLI = Glicose
HEMA= Hematócrito
IGF = insulin like growth factor (fatores de crescimento semelhantes à insulina)
INS = Insulina
MS = Matéria seca
NDT = Nutrientes digestíveis totais
PB = Proteína Bruta
PEG = Polietileno glicol
PP = Pós-parto
PPL = Proteína plasmática
PREP = Pré-parto
PSC = Período seco curto
PSR = Período seco regular
PTH = Hormônio da paratireóide ou paratormônio

RESUMO

TEIXEIRA, Lucia de Fátima Andrade Correia. **Efeito do estradiol, dietas e período seco sobre o desempenho e fisiologia de vacas Holandesas** Lavras: UFLA, 2001. 150p. (Tese - Doutorado em Zootecnia)¹.

Foram avaliados os efeitos de dietas aniônicas (-136 meq/kg) e catiônicas , (+73 meq/kg) associadas ou não ao uso de estradiol nos períodos secos de trinta e sessenta dias sobre consumo de matéria seca , alterações nos parâmetros sanguíneos no período peripartum e produção de leite no pós-parto , distribuídas aleatoriamente em um esquema fatorial 2x2+2. O presente experimento foi desenvolvido na Unidade de Pesquisa em Gado de Leite da Universidade da Flórida (DRU), na cidade de Gainesville. Foram utilizados os seguintes tratamentos experimentais: 1.dieta aniônica e período seco de 30 dias (DA30); 2.dieta catiônica e período seco de 30 dias (DC30), 3.dieta aniônica, período seco de 30 dias e aplicação de estradiol (DA30E); 4.dieta catiônica, período seco de 30 dias e aplicação de estradiol (DC30E); 5.dieta aniônica e período seco de 60 dias (DA60); 6.dieta catiônica e período seco de 60 dias (DC60). As dietas foram fornecidas por 21 dias no pré-parto , após o qual, as vacas passaram a receber uma dieta de lactação. Os animais foram submetidos a duas faixas de temperaturas médias: abaixo de 26^o C e pariram no outono (Estação 1) e a acima de 26^o C, temperaturas extremas e pariram no verão (Estação 2). Altas temperaturas (estação 2) reduziram o consumo, tanto no pré quanto no pós-parto, embora no pós-parto este tenha permanecido dentro da faixa de consumo predito segundo equação do NRC, nas duas estações. Os parâmetros sanguíneos não foram influenciados pelas estações, com exceção da proteína plasmática (PP), que sofreu uma redução acentuada em torno da parição. Entretanto, logo após a parição, observou-se um aumento acentuado, indicando que as dietas supriram as exigências protéicas no início da lactação, assim que o consumo foi reestabelecido. A maior quantidade de AGNE produzida para os menores consumos,neste ensaio, não indicam condição de cetose. Os resultados obtidos indicaram que os tratamentos não influenciaram no consumo pré-parto (P>0,05), entretanto afetaram o consumo no pós-parto (P<0,01), mostrando que dietas associadas ao período seco de 60 dias são viáveis para vacas no pré-parto, e que a diferença cátion-ânion utilizada (DCAD) foi efetiva na redução do pH sanguíneo, induzindo uma acidose metabólica subaguda, sem alterar a palatabilidade das rações e o consumo no pré-parto, o que levou a um aumento

¹ Comitê Orientador: Juan Ramon Olalquiaga Pérez (orientador); H. Herbert Head - University of Florida ; José Camisão de Souza – UFLA e Joel Augusto Muniz - UFLA.

do consumo no pós-parto e da produção de leite, sem alterações nos parâmetros sanguíneos, o que provavelmente está relacionado ao controle hipocalcêmico das dietas aniônicas, em torno da parição. Não houve diferença entre consumo pós-parto, para vacas com períodos secos de 30 dias, quando comparado ao consumo observado em vacas secas aos 60 dias, entretanto a produção de leite foi menor ($P < 0,01$), quando se comparou os tratamentos 1 e 2 contra 5 e 6, o que sugere que o período seco de 30 dias não seja suficiente para completar o crescimento, e renovação das células epiteliais mamárias, possivelmente, devido a produção de menor quantidade de tecido secretor. Dietas aniônicas, associadas a estradiol, no período seco de 30 dias resultam em aumento de consumo quando comparada com a dieta catiônica, associada a estradiol, ($P < 0,01$), entretanto não houve diferença na produção de leite ($P > 0,05$). Quando se comparou dietas associadas à estradiol, a todas as outras, estas produziram menores consumos e menores produções de leite que as demais, o que possivelmente está relacionado ao menor desenvolvimento das células epiteliais mamárias durante a lactação.

ABSTRACT

TEIXEIRA, Lucia de Fátima Andrade Correia. **Effect of anionic and cationic diets fed in prepartum on performance of Holstein cows in peripartum, with different dry periods, associated or not with estradiol injection** Lavras: UFLA, 2001. 150p. (PhD Thesis in Animal Science)¹.

The effects of anionic (-136 meq/kg) and cationic diets (+73meq/kg), associated or not with estradiol injection were evaluated in 30 days and 60 days dry period on dry matter intake, blood parameters changing in peripartum and milk production in postpartum. This trial was undertaken in Dairy Research Unit of Florida University, in Gainesville. Forty cows were assigned randomly to diet in a 2x2+2 factorial arrangement for 21 days in prepartum. The following treatments were tested: 1. anionic diet (DCAD=-136 mg/kg), 30 days dry period (AD30) 2. Cationic diet and 30 days dry period (CD30), 3. anionic diet, 30 days dry period and estradiol injection (AD30E) 4. cationic diet, 30 days dry period and estradiol injection (CD30E); 5. anionic diet, 60 days dry period (AD60); 6. cationic diet, 60 days dry period (CD60). After calving a standard dairy diet was fed to all cows postcalving for more 21 days. The cows were under two different range of temperatures: up to 26^o C, that calved in autumn (Season 1) and over 26^o C, (extreme temperatures) and calved in summer (Season 2). Higher temperatures (season 2) decreased the feed intake, either in prepartum or postpartum, although the feed intake in postpartum was in the predicted amount by NRC equation, in both seasons. The blood parameters were not affected by seasons, except plasma protein, which decreased around the calving, however its concentrations increased immediately after calving, suggesting that diets provided the protein requirements, as soon the intake was recovered. A higher NEFA concentration observed to lower intakes did not mean ketotic condition, all means were under . The results shown that the treatments were non-significant in prepartum feed intake (P>0.05), however, they affected postpartum feed intake (P<0.01), showing that diets associated with 60 days are feasible in prepartum and DCAD obtained was effective in blood pH reduction, inducing a mild subacute metabolic acidose, and did not show palatability problems, increasing feed intake and milk production in postpartum, possibly because anionic diets prevented hipocalcemia. There were non-significant differences in feed intake between cows with 30 days dry period, when contrasted with 60 days dry period, however milk production was lower (P<0.01), when treatments 1 and 2 were compared against treatments 5 and 6.

¹ Comitê Orientador: Juan Ramon Olalquiaga Pérez (orientador); H. Herbert Head - University of Florida ; José Camisão de Souza – UFLA e Joel Augusto Muniz - UFLA.

This result suggest that 30 days dry period is not time enough to complete the growing and redevelopment of epitelial mammary cells, possibly because less milk secretor tissue was produced. Anionic diets associated with estradiol in 30 days dry period increased feed intake when compared to cationic diets associated to estradiol ($P < 0.01$), however no differences ($P > 0.05$) were observed in milk production ($P > 0,05$). When diets associated to estradiol (treatments 3 and 4) were contrasted with all others, they reduced feed intake and milk production. This fact, probably is related to lesser developing of milk epithelial cells over the lactation, however these milk production results are not conclusive, because cows injected with estradiol show latter peaks and because the small number of animals used in this trial.

1 INTRODUÇÃO GERAL

O período de transição para vacas leiteiras, definido como três semanas anteriores e três semanas posteriores ao parto, é uma das fases mais importantes do ciclo lactacional, sendo que a nutrição e o manejo durante este período definirão todo o seu desempenho durante a lactação. Assim, um programa nutricional inadequado aumenta os custos de produção por unidade de leite produzido, diminui a produção de leite e aumenta a incidência de doenças metabólicas.

Um dos objetivos do período pré-parto é a maximização do consumo, a fim de minimizar a extensão e a duração do balanço energético negativo e o aparecimento de doenças metabólicas após a parição, além de diminuir a dependência corporal dos estoques de energia e aminoácidos do tecido adiposo e muscular (Drackley, 1998).

Dentre as principais doenças metabólicas, que podem acometer a vaca de transição, está a febre do leite, que é responsável pela redução de 14% da produção subsequente e pode diminuir sua vida produtiva em até 3,4 anos (Block, 1984). Além disso, o estado hipocalcêmico dos animais, principal característica da doença, pode levar ao aparecimento de outras doenças, como distocia, retenção de membranas fetais, metrite, deslocamento de abomaso, cetose, mastite, entre outras (Risco, 1992).

Dietas aniônicas, também chamadas de dietas acídicas, são dietas que apresentam uma excessiva composição de ânions em relação a cátions e contribuem para a formação de um metabolismo ácido, que ajuda a prevenir a febre do leite. É importante considerar não somente o conteúdo de cálcio total, mas também as diferenças cátions-ânions (Risco, 1992).

Alguns estudos (Green et al., 1981; Kichura et al., 1982, Shapell et al., 1987) mostraram que dietas ricas em Ca no pré-parto, estão associadas ao

aumento da incidência de febre do leite, através do aumento de pH sanguíneo, provocando uma alcalose metabólica, que faz com que o animal não mais tenha habilidade em responder adequadamente ao hormônio da paratireóide (PTH) , causando uma ruptura da integridade dos receptores nos tecidos alvo. Inversamente, dietas com baixa diferença cátion-ânion previnem alcalose metabólica, aumentando a resposta dos tecidos sensíveis ao PTH, o qual controla a 1α -hidrolase e a absorção óssea e renal de Ca. A resposta ao PTH permite que a vaca se adapte com sucesso ao stress de Ca, associado ao início da lactação (Horst et al., 1997).

Outra forma de se aumentar a produção leiteira anual é através do aumento do período de lactação total do animal. Assim, o período seco curto, de 30 dias, tem como objetivo aumentar a rentabilidade da produção leiteira anual, uma vez que o animal, não está produzindo neste período. Entretanto, o desenvolvimento e proliferação das células da glândula mamária ocorrem durante o período seco (45 a 60 dias para vacas).

Tem-se questionado se períodos secos menores que sessenta dias são tempo suficiente para que as vacas completem todo o processo de renovação e proliferação de células epiteliais mamárias, sem prejuízo para a próxima lactação (Hurley, 1989). Segundo Athie et al. (1997), algumas evidências, como maior ativação de plasminogênio, responsável pela involução do tecido mamário, indicam que 30 dias é tempo suficiente para completar esse processo, uma vez que a involução mamária parece ser completa 30 dias após secagem das vacas Capuco, Akers e Smith (1997), também não observaram sinais de involução mamária em um período de 60 dias, sem perda de células mamárias , e concluíram que o principal processo que ocorre nesta fase seria a substituição ou renovação de células danificadas e que 35 dias seria tempo suficiente para completar esta involução antes do parto.

A administração de estradiol exógeno, no final da remoção da lactação, oferece a oportunidade de acelerar a involução mamária, a qual é mediado por concentrações fisiológicas de estrógenos liberados pela unidade em desenvolvimento feto-placenta (Athie et al., 1996). Quando se usa injeções esteróides em períodos curtos, as células são capazes de crescer, remodelar e permanecer funcionalmente ativas (Head , 1999)

A associação das dietas aniônicas ao uso de estradiol em períodos secos curtos tem como objetivo acelerar a involução das glândulas mamárias, o que permitiria que as vacas permanecessem maior porcentagem de tempo em lactação e que seria traduzido em maior produção e rentabilidade para o produtor.

Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de dietas aniônicas e catiônicas, fornecidas no período pré-parto, em dois períodos secos, de trinta e sessenta dias, com e sem aplicação de estradiol, sobre o consumo alimentar no pré e pós-parto e produção de leite, utilizando a avaliação de metabólitos sanguíneos, para se avaliar mudanças fisiológicas e metabólicas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Febre do Leite

O principal distúrbio metabólico que pode afetar a vaca de leite durante o período de transição, próximo à parição é a paresia hipocalcêmica da parturiente, comumente chamada de febre de leite (Risco, 1992)

A febre do leite é uma doença metabólica, que ocorre especialmente em vacas alta produtoras, à parição ou próximo a ela. A maioria dos casos ocorre dentro de 48 a 72 h após a parição. A incidência aumenta com a idade e o número de partições. Ela é rara em novilhas de primeira parição e não é comum em animais de segunda cria. Os efeitos da idade e parição estão igualmente relacionadas à capacidade de produção de leite e habilidade das vacas em mobilizar Ca dos estoques corporais (Shearer e Van Horn, 1992). A febre do leite é caracterizada por baixa concentração de Ca e fraqueza muscular, causada pela incapacidade de algumas vacas de atender às demandas metabólicas por grandes quantidades de Ca, ocorrendo um rápido declínio nas concentrações plasmáticas de Ca, resultante das perdas de Ca para formação do colostro (Horst et al., 1997).

Uma vez que os músculos exigem Ca, os sintomas de hipocalcemia refletem um impedimento progressivo na função muscular, a qual é dividida em três estágios: o primeiro, que é breve, consiste de excitação, tetania, hipersensibilidade, tremores musculares, falta de apetite e a maioria dos animais tende à ataxia e quedas frequentes. A característica do segundo estágio é a recumbência esternal. Acometidas, as vacas não estão aptas a permanecer de pé, a temperatura corporal fica abaixo da normal e a frequência cardíaca fica ligeiramente aumentada (80/min), ocorrendo estasia ruminal e constipação. No terceiro estágio, as vacas tornam-se mais comatosas. Se elas não forem tratadas

rapidamente, aumenta o potencial de necrose muscular, injúria que pode predispor as vacas à síndrome da paresia e mais tarde, pode ocorrer, ataque cardíaco, falha respiratória e morte (Shearer e Van Horn, 1992).

Tem sido relatada associação significativa entre paresia da parturiente, distocia e prolapso uterino, metrite e retenção de membranas fetais (Risco, 1992). Órgãos como útero e abomaso tem função muscular lisa significativa e podem ter problemas com hipocalcemia. Reduções no conteúdo de cálcio sanguíneo podem afetar o funcionamento normal destes órgãos, fazendo com que o animal não consiga se levantar. Huber et al. (1981) concluíram que as contrações ruminais cessaram antes que sinais de hipocalcemia fossem observados e da disfunção ruminal.

Sinais subclínicos de hipocalcemia podem ocorrer antes que sinais clínicos de hipocalcemia possam suprimir o apetite, exacerbando o estado energético negativo e cetose durante o início do período pós-parto, saúde e produtividade (Risco, 1992). A redução do consumo alimentar e do balanço negativo antes da parição aumenta as concentrações de ácido graxo não esterificado no plasma e a concentração de triglicerídeos no fígado à parição (Vanderharr et al., 1999) e está associada às maiores incidências de cetose e deslocamento de abomaso (Cameron et al., 1998). Staples, Tatcher e Clark (1990) observaram que vacas com baixo consumo alimentar e balanço energético negativo apresentaram problemas reprodutivos 63 dias pós-parto.

A febre do leite é uma doença economicamente importante. Pesquisas indicam que vacas com febre do leite clínica produzem menos 14% de leite na lactação subsequente e podem ter a vida produtiva reduzida em até 3,4 anos, quando comparadas a vacas que não apresentam a doença (Block, 1984, Erb et al., 1988)

Por muitos anos, algumas práticas têm sido utilizadas visando evitar a hipocalcemia. Dentre elas se encontram a restrição alimentar de Ca no fim da

gestação, a administração de doses intramusculares ou orais de vitamina D₃, e suplementação oral com pastas de Ca. Entretanto, a prática mais bem sucedida no controle da febre do leite parece ser o uso de dietas aniônicas, uma vez que este método aclimata a vaca a mobilizar as reservas ósseas de Ca antes do início da lactação (Horst et al., 1997).

A restrição de Ca nem sempre é eficaz na redução da incidência da febre do leite, uma vez que forragens de alta qualidade são tipicamente ricas em Ca, dificultando a formulação de rações com menos de 50 g de Ca (Sanchez et al., 1997). Dessa maneira, forragens leguminosas que são ricas em Ca não são tradicionalmente recomendadas para vacas secas. Nos EUA, a maioria das vacas no início da lactação, quando as exigências de nutrientes são elevadas, é alimentada com rações de lactação baseadas em alfafa (Horst et al., 1997). Uma mudança abrupta na dieta na parição pode causar alteração ruminal, que poderia diminuir a eficiência em uma época em que a vaca deveria estar produzindo grandes quantidades de leite.

Embora, a suplementação de vitamina D₃ tenha evitado com sucesso o aparecimento da febre do leite (Horst et al., 1983), a administração de doses sucessivas desta, pela predição inadequada da data de parição pode levar à toxicidade (Green, 1981).

A administração oral de Ca pode ser efetiva, mas algumas pastas podem ser abrasivas e causar ulcerações na mucosa dos animais (Horst et al., 1997).

O período próximo à parição (close-up), definido como três semanas que antecedem o parto até a parição, é um período extremamente crítico para a vaca de leite e, provavelmente, irá definir todo o seu desempenho lactacional (Grant e Albright, 1995).

Alguns estudos (Green et al., 1981; Kichura et. al, 1982; Shapell et al., 1987) mostraram que dietas ricas em Ca no pré-parto, estão associadas ao aumento da incidência de febre do leite, através do aumento de pH sanguíneo,

provocando uma alcalose metabólica, que faz com que o animal não tenha habilidade em responder adequadamente ao PTH, causando uma ruptura da integridade dos receptores nos tecidos alvo. Inversamente, dietas com baixa diferença cátion-anião impedem uma alcalose metabólica, aumentando a resposta dos tecidos sensíveis ao PTH, o qual controla a 1α -hidrolase e a absorção óssea e renal de Ca. A resposta ao PTH permite que a vaca se adapte ao estresse de Ca, associado ao início da lactação (Horst et al., 1997).

2.2 Dieta Aniônica

É uma estratégia do manejo nutricional de vacas secas no final da gestação, que pode ajudar na redução da febre do leite e nos problemas da parturiente relacionados à febre do leite (Beede et al., 1991), por aumentar a quantidade de mineral acidogênico nas dietas de pré-parto em relação aos minerais alcalogênicos (Block, 1984).

A verdadeira causa da febre do leite é uma falha geral do sistema que acessa e utiliza o reservatório de Ca nos tecidos ósseos e o Ca suprido através da dieta. Alguns mecanismos são responsáveis pela manutenção de uma concentração estável de Ca circulante (Joyce, Sanchez e Goff, 1997). Os órgãos responsáveis são os rins, que controlam a excreção urinária, o intestino, onde o Ca é absorvido no sistema e os ossos, o principal local de estocagem. Além disso, estes tecidos são ativados sob os principais controles endócrinos calcitróficos de metabolismo de Ca: hormônio paratireóide (PTH), a 1,25-dihidroxitamina D $[1,25(\text{OH})_2\text{D}]_3$ e seus metabólitos e a calcitonina. Estes mecanismos são desafiados a cada parição (Goff, Reinhardt e Horst, 1997).

No parto, o início da lactação precipita um dreno de Ca disponível no sangue a medida que o leite e colostro são formados. Como o colostro pode conter 2,3 g/l de Ca, a produção de 10 l drena 23 g de Ca, a qual é

aproximadamente nove vezes a quantidade de Ca presente no pool plasmático (Horst et al., 1997). Assim, não é surpreendente que até 67% das vacas adultas se tornem hipocalcêmicas no parto (Oetzel et al., 1988).

Os mecanismos pelos quais dietas acidogênicas agem são conflitantes. As principais hipóteses encontradas na literatura seriam de que o uso de sais aniônicos durante o período pré-parto aumenta a hidroxiprolina plasmática, um índice de reabsorção óssea, o que sugere que altas concentrações de Ca no sangue sejam devidas à sua dissolução. A outra seria a ação através da maior absorção de Ca do intestino, uma vez que vacas alimentadas com dietas aniônicas apresentam maiores concentrações de receptores de 1,25 diidroxivitamina D₃ (1,25(OH)₂D₃) na mucosa do cólon, em resposta ao estímulo de PTH (Joyce, Sanchez e Goff, 1997).

Os métodos do controle de hipocalcemia são destinados a estimular a mobilização de Ca do osso antes da parição. Eles devem ser iniciados no período seco porque a mobilização óssea leva mais de 24 h para ser ativada. A dieta é manipulada para ativar esses mecanismos de mobilização de Ca a tempo para que a vaca possa ter acesso às reservas ósseas de Ca, quando necessárias na parição (Sanchez et al., 1997).

Dietas aniônicas podem causar acidose metabólica subaguda, que provoca a liberação de Ca do osso, aumenta a absorção de Ca do intestino e causa uma perda de Ca através da urina. A prevenção da febre do leite requer a redução do pH sanguíneo para prevenir acidose metabólica (Horst et al., 1997). Uma maneira de monitorar os programas de DCAD nas vacas no pré-parto é através do pH urinário. Através dele, pode-se checar se a ração está produzindo os efeitos desejados. Se a média do pH urinário for acima de 6.5, a ração não está afetando o estado ácido-base suficientemente para alterar as concentrações de Ca sanguíneo na parição (Sanchez et al., 1997). Entretanto, se o pH urinário

estiver abaixo de 5.5, os ânions dietéticos devem ser reduzidos para evitar severa acidose metabólica (Horst et al., 1997).

Ainda é incerto por quanto tempo as dietas aniônicas devem ser fornecidas antes da parição para se conseguir os efeitos desejados. O fornecimento por 6 semanas não apresentou problemas aparentes (Beede et al., 1991), entretanto, Nocek (1996), observou que uso de dietas aniônicas por períodos extensos deve ser evitado. A criação de um ambiente ácido é não fisiológica, assim o seu uso por mais que 21 dias antes da parição não é recomendado, e é mais provável que seja benéfico com níveis de Ca entre 1-1,4% da MS da ração total (150-180g).

Os efeitos negativos do uso extenso de dietas aniônicas incluem: acidose metabólica, condição osteoporótica e redução da calcitonina do soro responsável por dietas com baixo teor de Ca (Bushinsky et al., 1985).

Dietas com DCAD negativo, suplementadas com quantidades apreciáveis de sais aniônicos, não são recomendadas para vacas em lactação sob quaisquer circunstâncias. Da mesma maneira, dietas de lactação não devem ser fornecidas no final da gestação, porque contêm bicarbonato de sódio e torna o DCAD mais positivo, o que predisporia as vacas à hipocalcemia e febre do leite (Beede et al., 1991).

2.2.1 Formulação de dietas usando diferença de cátions e ânions na dieta (DCAD)

Primeiramente, todos os ingredientes basais da dieta devem ser analisados para Na, K, Cl e conteúdos de S antes de começar a formulação da ração, especialmente forragens e subprodutos de alta variabilidade dos valores de tabela. Depois então, deve-se calcular a DCAD da dieta basal, antes da suplementação com sais aniônicos (Beede et al., 1997).

Para calcular o DCAD, a concentração mineral na dieta é convertida primeiramente à sua carga aniônica, devido ao fato dos minerais reagirem de acordo com sua carga. A concentração pode ser expressa em meq/100g de MS ou em meq/kg of MS (Sanchez et al., 1997).

As seguintes fórmulas podem ser usadas para se calcular a diferença cátion-ânion na dieta (DCAD) (Sanchez et al., 1997).:

a) $(\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{S}^{2-}) / 100 \text{ gDM}$

b) $[(\% \text{Na} / 0.023) + (\% \text{K} / 0.039)] - [(\% \text{Cl} / 0.0355) + (\% \text{S} / 0.016)]$

c) $(0.38 \text{ meq Ca}^{2+} / \text{kg} + 0.3 \text{ meq Mg}^{2+} / \text{kg} + \text{ meq Na}^+ + \text{ meq K}^+ / \text{kg}) - (\text{ meq de Cl}^- / \text{kg} + 0,6 \text{ meq SO}_4^{2-} / \text{kg})$

A expressão mais comumente usada é a segunda.

Depois de calculado o DCAD da dieta basal, a qual deve atender as recomendações de energia e outros nutrientes, deve-se considerar a suplementação de sais aniônicos. O objetivo final da formulação deve ser um DCAD de -100 meq/kg a -150 meq/kg de MS da dieta, o qual pode ser obtido, usando somente um ou uma mistura de diferentes sais aniônicos (Beede et al., 1997).

2.2.2 Sais Aniônicos

Podem ser definidos como sais com maior teor de íons Cl e S fixados (ânions) relativos aos cátions Na e K, que aumentam a mobilização de Ca e previnem o aparecimento de paresia da parturiente (Oetzel et al., 1988).

As fontes potenciais de sais aniônicos usados na obtenção de dieta com DCAD negativo incluem: sulfato de amônio, sulfato de cálcio, sulfato de magnésio, sulfato de alumínio, cloreto de amônio, cloreto de cálcio e cloreto de magnésio. O cloreto de Ca é muito higroscópico e cáustico (Beede et al., 1991),

entretanto, os sais de fosfato não são comumente usados, porque são fracamente acidificantes.

Os problemas de toxicidade com sais aniônicos não são comuns, uma vez que estes não são muito palatáveis, seu consumo excessivo é improvável (Beede et al., 1997) e ainda não estão estabelecidas as quantidades e tipos de sais aniônicos que devem ser recomendados (Moore et al., 2000).

Devido à relativa falta de aceitabilidade dos sais aniônicos, recomenda-se que as dietas devam ser fornecidas na forma de ração total e que as vacas tenham acesso contínuo à dieta, especialmente às rações misturadas a resíduos de destilaria e a alguns ingredientes úmidos, como silagens. Entretanto, sinais clínicos de acidose sistêmica aguda podem ser esperados se 200 g de sulfato de amônio e cloreto de amônio forem consumidos de uma só vez, e não na forma de ração total, o que resultaria em um consumo parcelado durante o dia (Oetzel et al., 1988).

2.2.3 Pesquisas com DCAD negativo no fim da gestação

Uma dieta de pré-parto com DCAD negativo pode ser fornecida para prevenir a febre do leite (Block, 1984; Oetzel et al., 1988, Gaynor et al., 1989). Moore et al. (2000) também observaram as dietas aniônicas (-15 meq/100g), fornecidas às vacas nas últimas 3 semanas pré-parto previniram a maioria dos casos de hipocalcemia da parturiente, mas para novilhas, ocorreu efeito negativo no estado energético. Além disso, a produção de leite, as taxas de concepção e dias abertos foram aumentados nas vacas que se alimentaram de dietas aniônicas comparadas àquelas alimentadas com uma dieta mais tradicional (Risco, 1992).

2.3 Estradiol

O parto é um processo altamente coordenado que exige interação entre diferentes hormônios. Um dos principais hormônios envolvidos neste processo é o estradiol, que tem a função primordial de preparar e iniciar o processo de parto. Mais recentemente, tem-se questionado o papel do estradiol, como fator de aceleração da involução mamária em vacas secas, uma vez que ele apresentou capacidade de aumentar a atividade do ativador de plasminogênio em uma extensão maior do que a normalmente presente durante o início da fase de involução ativa do tecido mamário bovino (Athie et al., 1997).

O tratamento com estrógeno parece romper junções dos tecidos mamários, facilitando a transferência de plasminogênio em plasmin do sangue em secreção. Desta maneira, a administração de estradiol exógeno, no final da remoção da lactação, oferece a oportunidade de acelerar a involução mamária, o qual é mediado por concentrações fisiológicas de estrógenos liberados pela unidade em desenvolvimento feto-placenta (Athie et al., 1996).

A eficácia da ação do estradiol sobre a involução pode ser indicada pela redução das concentrações de α -lactoalbumina, lactose, citrato e potássio, assim como o aumento de células somáticas, proteína, lactoferrina e sódio, os quais ocorreram mais cedo, seis dias em relação ao período seco, nas secreções de vacas tratadas com estradiol-17 β . (Athie et al., 1996). Os autores sugeriram, então, que a redução do período seco com manutenção de uma boa produção leiteira requer aceleração da involução ativa e eliminação da fase de estagnação (steady-state), e que o crescimento e a diferenciação do tecido mamário pode ser manipulado pela utilização do estradiol, permitindo, assim, períodos secos menores que 40 dias.

2.4 Período Seco: mudanças estruturais e morfológicas e duração

O período seco não é um período meramente destinado ao descanso da vaca, mas um período em que ocorrerão importantes mudanças que irão influenciar profundamente a próxima lactação. O tecido mamário deve involuir, regenerar, e produzir, então, um colostro de alta qualidade. O feto deverá completar quase dois terços do seu crescimento no período seco e este crescimento terá prioridade sobre os próprios tecidos corporais da mãe. (Oetzel, 1993)

Uma vez que o período seco é crítico na maximização da secreção do leite, esta poderia ser uma fase crítica para se concentrar nas estratégias de manejo para assegurar a lactação subsequente. Entretanto, o conhecimento sobre os eventos que ocorrem no período seco do ciclo de lactação bovino é incompleto (Capuco, Akers e Smith, 1997) e pouco se sabe sobre a extensão da involução, crescimento e diferenciação que ocorrem na glândula mamária durante este período (Athie et al., 1997).

O período não lactante pode ser dividido em três fases fisiológicas: involução ativa, que é a transição do tecido mamário para o estado não-lactante, que começa logo após a remoção do leite, a fase de estagnação (steady-state), durante a qual a glândula não está lactando, em um estágio amplamente involuído e a terceira fase que ocorre 14 a 28 dias antes do parto, quando o tecido secretório se desenvolve novamente (Athie et al., 1996).

Muitas mudanças estruturais que ocorrem nos tecidos levam à mudanças morfológicas no pós-parto. Durante os primeiro dois dias de involução, os vacúolos podem ser vistos nas células epiteliais indicando que está ocorrendo remodelação celular. Ocorre redução no retículo endoplasmático, mitocôndria e o complexo de Golgi é virtualmente inexistente. Também se observou aumento da área entre alvéolos e redução do lúmen alveolar a medida em que a involução

progrediu. Células epiteliais alveolares pareceram ser funcionalmente ativas aos 21 e 30 dias de involução, mas sem atividade secretória de componentes do leite (Holdst, Hurley e Nelson, 1987).

Segundo Hurley (1989), as vacas requerem um período seco de 40 a 60 dias entre lactações para permitir produção máxima durante a lactação subsequente.

Em trabalhos mais antigos (Coppock, 1974 e Swanson, 1967) o período seco menor que 40 dias resultou na redução de produção do leite durante a lactação seguinte, por não ser suficiente para completar o processo de involução, regeneração e proliferação mamária. Entretanto, este conceito tem sido modificado, uma vez que o processo de involução parece começar a ocorrer logo no final da lactação, sem perda significativa de células mamárias, durante um período seco típico de 60 dias (Capuco, Akers e Smith, 1997).

O crescimento mamário parece ser iniciado aos 25 dias de período seco e a grande importância deste período é permitir a substituição das células danificadas ou senescentes antes da próxima lactação. Embora, o número de células não difira entre glândulas mamárias durante o período pré-parto, os processos de proliferação parecem aumentar a porcentagem de células epiteliais nas glândulas mamárias de vacas secas antes da parição e 35 dias pré-parto parece ser um tempo essencial para estes eventos (Capuco, Akers e Smith, 1997).

A involução mamária parece estar completa 30 dias após secagem das vacas, o que pode ser sugerido pela ativação do plasminogênio, que parece ser responsável pela involução do tecido mamário, uma vez que ele tem a função de ativar o plasmin, uma proteína sérica, que tem a função de quebrar a matriz e as membranas basais protéicas, permitindo a substituição de qualquer célula epitelial senescente, substituindo-as por células secretoras novamente diferenciadas (Athie et al., 1997)

3 METODOLOGIA GERAL

3.1 Animais

Foram utilizadas 40 vacas holandesas multíparas, selecionadas do rebanho da Unidade de Pesquisa de Bovino Leiteiro (Dairy Research Unit – DRU) da Universidade da Flórida distribuídas aleatoriamente a cada um dos seis tratamentos experimentais.

Utilizou-se vacas que estavam comprovadamente prenhes e que apresentaram escore de condição corporal (ECC) entre 3,25 a 3,75. Devido aos tratamentos experimentais, algumas vacas foram retiradas do rebanho de produção 60 dias antes da data prevista para o parto, obtida de fichas de controle da referida fazenda, tratadas contra endo e ectoparasitas, pesadas e após avaliado o escore de condição corporal (ECC), eram alocadas junto às demais vacas do rebanho seco, onde permaneciam em piquetes de alimentação por até 30 dias antes do parto. Após este período, as vacas, foram então trazidas para um sistema de free-stall com solário, quando tinham seus pesos e escores corporais avaliados (1-5, magro a obeso, Edmonton et al., 1989) colocando-se um colar provido de sensor para o sistema de portões “Calan gate” e adaptadas às dietas totais (catiônicas) e às novas instalações, por um período de 9 dias, para que aos 21 dias antes da data prevista do parto, recebessem a respectiva dieta experimental.

Outro grupo de vacas, foi retirado do rebanho de produção aos 30 dias que antecederam à data prevista de parição, utilizando-se o mesmo procedimento do grupo acima, sendo que, os animais cujo tratamento consistia de estradiol, recebiam 2 doses de 0,5 ml cada de estradiol cipionato (no dia em que foram secas e no dia subseqüente) e foram imediatamente alocadas no mesmo galpão das vacas secas aos 60 dias, porém em alas diferentes, no sistema de free-stall. O

peso inicial das vacas variou entre 519 e 833 kg e o escore de condição corporal entre 2,5 a 4,75, com produção prévia média entre 25 a 36,17 kg /dia Embora inicialmente, tenham sido selecionadas vacas de ECC entre 3,25 a 3,75, entretanto, fatores de manejo e arraçoamento modificaram esta característica do período mais distante da parição até o período de transição mais próximo à parição. Todas as vacas entraram no período experimental entre 23/06/1999 e 28/10/1999 e pariram entre 23/08/99 e 08/12/99. Os animais foram classificados em dois grupos: os que foram submetidos durante o período experimental a temperaturas médias abaixo de 26^o C e pariram no outono (Estação 1) e os que foram submetidos a temperaturas extremas e pariram no verão, com temperaturas acima de 26^o C (Estação 2).

Após a parição, os animais foram novamente pesados, fez-se a avaliação do escore de condição corporal (ECC) e estes passaram ao grupo de lactação, onde recebiam a dieta de lactação (Tabela 3 do Capítulo 2).

3.2 Instalações

Os animais foram alojados em instalações de sistema free-stall, constituído por um galpão, coberto com estrutura de metal e provido de ventiladores, onde tinham acesso diariamente, a um solário, para permitir movimentação, onde os animais poderiam parir.

O galpão era constituído de duas alas, com um corredor de movimentação central, o qual permitia a movimentação de alimentadores motorizados. Cada ala era provida de dois bebedouros laterais e de comedouros, que davam acesso aos animais, somente através de portões eletrônicos, (vide descrição abaixo) e também de um sistema de lavagem do piso a jato (flushing), que permitia a lavagem diária das instalações.

3.3 Rações experimentais

As dietas aniônicas e catiônicas constituíram-se de silagem de milho, feno de alfafa, caroço de algodão, polpa cítrica, grãos de destilados e uma mistura de grãos, apresentando 51% de MS, 16% de PB, 64% de NDT, 1,6% de Ell, 37% de CNE, 25,36 e 25,93 de FDA e 37,09 e 37,86% de FDN e uma diferença de cátion-ânions na dieta (DCAD) de -136 e +73 meq/kg, respectivamente, para dietas aniônicas e catiônicas. Para obtenção das dietas aniônicas, utilizou-se adição de cloreto de amônio. As rações estão descritas no capítulo 2.

3.4 Manejo e arraçãoamento

Uma vez removidas para o sistema de free-stall, as vacas recebiam a mesma ração catiônica, por um período de aproximadamente 14 dias, após o qual, passavam a receber por um período de 21 dias, a respectiva ração, ou seja, continuavam a receber a ração catiônica ou passavam a receber dieta aniônica.

As rações foram fornecidas na forma de ração total, determinando-se semanalmente, ou sempre que se mudava o lote, a matéria seca do feno e das silagens. O concentrado era armazenado já misturado em um reservatório, o qual era misturado diariamente aos volumosos em misturadores automáticos e fornecido aos animais entre 10 e 12 h , após recolhidas todas as sobras das rações do dia anterior, as quais eram computadas, para se determinar, posteriormente, o consumo. As quantidades eram recalculadas diariamente, para permitir uma sobra de no mínimo 10% do fornecido. À medida que os animais comiam, as rações se espalhavam, uma vez que eram depositadas no chão do galpão e não havia comedouros. O acesso dos animais às rações se tornava difícil, por isso duas vezes por dia se juntava as rações, que eram redirecionadas

para o respectivo animal. A ração era distribuída somente uma vez ao dia. Cada vaca tinha acesso somente à sua ração, através de sensores colocados em colares, que abriam somente o portão que dava acesso à sua ração, no sistema de portões eletrônicos (Sistema Calan-Gate, American Calan, Inc., Northwood, NH), o que permitia calcular exatamente o consumo de cada vaca.

Após o parto, as vacas foram pesadas, avaliados o ECC e transferidas para a ala do grupo de lactação, sob a mesma instalação, quando passavam a receber a dieta de lactação na forma de ração total, baseada em silagem de milho e sorgo, feno de alfafa, caroço de algodão, polpa cítrica e mistura de grãos concentrados (Tabela 3 do capítulo 2) . Uma vez por semana, as rações aniônicas, catiônicas e de lactação eram amostradas, sendo posteriormente, misturadas, amostradas (cerca de 40 g) e enviadas para o NEDHIA Forage Laboratory (Ithaca, NY) para análise de MS, PB, FDA, FDN, PB, NDT e EE.

O sistema de arração utilizado no pós-parto, foi o mesmo adotado no pré-parto, para ajuste de quantidades fornecidas aos animais, sistema Calan-gate e controle do consumo, a fim de se avaliar o efeito das dietas do pré-parto, sobre o consumo no pós-parto e lactação.

3.5 Tratamentos

Foram utilizados seis tratamentos, nos quais se associou período em que o animal permaneceu seco, tipo de dieta, aniônica ou catiônica, e como tratamentos suplementares, aplicação de estradiol cipionato (ECP), ficando constituídos como se segue abaixo:

1. Dieta aniônica, associada ao período seco de 30 dias;
2. Dieta catiônica, associada ao período seco de 30 dias;

3. Dieta aniônica, associada ao período seco de 30 dias e aplicação de estradiol;
4. Dieta catiônica, associada ao período seco de 30 dias e aplicação de estradiol;
5. Dieta aniônica, associada ao período seco de 60 dias;
6. Dieta catiônica, associada ao período seco de 60 dias.

3.6 Coletas e Medições:

No período pré-parto foram feitas as seguintes coletas e medições: sobras diárias dos alimentos, para determinação do consumo, coleta de urina, para determinação do pH e coleta de sangue para determinação de parâmetros sanguíneos.

No período pós-parto foram coletados: sobras diárias de ração, para determinação do consumo, sangue para determinação de parâmetros sanguíneos, além de computados dados diários de produção para todos os animais, para se avaliar a produção. As metodologias utilizadas são descritas abaixo.

As sobras de ração foram coletadas individualmente e pesadas automaticamente pelo sistema computadorizado do alimentador automático, para determinação posterior do consumo.

Foram tomadas amostras diárias de urina dos animais para determinação do pH, usando-se um peagâmetro automático. Como não se utilizou cateter, a urina era recolhida pela manhã, utilizando-se um pote plástico para coleta assim que o animal expelia o primeiro jato. Esta metodologia não permitiu que se coletasse a urina de todos os animais todos os dias, obtendo-se diferente número de amostras, utilizando-se o valor médio de pH de todas as amostras coletadas por animal.

As amostras de sangue foram coletadas da veia caudal de todas as vacas, começando no 27^o dia que antecedeu ao parto, três vezes por semana, iniciando-se sempre às 7:30 da manhã, antes que elas fossem ordenhadas e alimentadas, até o 27^o dia pós-parto. Tal procedimento era feito em um corredor de contenção, onde as vacas eram sangradas em ordem casualizada que diferia de coleta para coleta. Foram utilizadas agulhas de 2,54 cm para Vacutainer e tubos contendo heparina de sódio (10 x 100 mm, Becton-Dickinson, Fairlawn, NJ). As amostras de sangue eram imediatamente colocadas em gelo após a coleta e processado no máximo de 2 horas, quando as amostras eram centrifugadas em microhematócritos para determinação de hematócrito e proteína plasmática, após o qual, as amostras eram centrifugadas a 3000 RPM a 5^o C por 30 minutos em uma centrífuga GR 412 (Jouan, Winchester, VA) para separação do plasma. O plasma e o soro foram aliqotado separadamente em tubos plásticos de 5 ml, devidamente etiquetados, tampados e congelados à -20^oC, até serem analisados. Cada amostra de plasma foi analisada para insulina (INS), glicose (GLI) e ácido graxo não esterificado (AGNE).

Os hematócritos foram determinados utilizando-se tubos microcapilares para hematócrito, centrifugados por 2 minutos a 2000 RPM em uma centrífuga de microhematócrito, em seguida foram lidos em um leitor internacional de microcapilares IEC (disco graduado). Após este procedimento, uma porção de plasma foi colocada sobre um refratômetro para determinação da proteína plasmática.

As concentrações de insulina foram determinadas através do procedimento de radioimunoensaio de anticorpo duplo. Para determinação de glicose e ácidos graxos não esterificados (AGNE), utilizou-se kits. O fundamento da determinação de glicose se baseia no princípio de que esta, ao ser misturada a água e oxigênio, na presença de glicose oxidase, forma ácido glucônico e peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Este peróxido de hidrogênio,

adicionado de o-dianisidina (incolor), na presença de peroxidase, forma um composto de cor marrom, a dianisidina oxidada. A intensidade da cor marrom medida a 425-475 nm é proporcional à concentração de glicose original.

O Kit utilizado para determinação de AGNE foi o kit de NEFA-C, da Wako Pure Chemical Industries, Ltda, Dallas, Texas, que se baseia no princípio de na presença de ATP, a coenzima A e a acil-CoA sintetase, formam acil-CoA e subprodutos de AMP e pirofosfato. Assim, o acil-CoA produzido é oxidado pela acil-CoA oxidase, a qual produz peróxido de hidrogênio e 2,3- trans-enoilCoA. A peroxidase age no peróxido de hidrogênio, na presença de 3-metil-N-etil-N-(β-hidroxi-*etil*)-anilina e 4-aminoantipirina para formar o produto de reação final, uma quinona roxa (γ_{\max} , 550 nm). Esse produto final é levado a espectrofotômetro e lido em um comprimento de onda de 550 nm.

Todas as vacas foram ordenhadas em uma sala de ordenha no formato de espinha de peixe duplo 8 equipada com ordenhadeiras DeLaval e um sistema de identificação dos animais com transponder e pesagem computadorizada, sendo que as produções de leites individuais eram computadas, diariamente, para cada ordenha, a partir da 2ª ordenha até 70 dias pós-parto. As vacas eram ordenhadas três vezes ao dia , sempre por volta de 9, 17 e 01:00 h. Elas eram trazidas para um pátio anterior à sala de ordenha, antes de cada ordenha e lavadas automaticamente, por um sistema de aspersão situados no chão abaixo das tetas das vacas (3 ciclos, por cerca de 5 minutos). Terminada a ordenha, suas tetas eram imersas em solução iodada e então retornavam para o estábulo.

3.7 Delineamento estatístico

As vacas foram distribuídas aleatoriamente em delineamento inteiramente casualizado, em um esquema fatorial (2x2)+2, constituído por 2

períodos secos (30 e 60 dias), 2 tipos de ração (aniônica e catiônica) e dois tratamentos adicionais (uso ou não de estradiol somente para o período seco de 30 dias), perfazendo 6 dietas.

Foram utilizados 40 animais, em um modelo desbalanceado, sendo que as repetições para os tratamentos 1,2,3,4,5 e 6 foram constituídas de 6, 6, 6, 7, 8 e 7 vacas, respectivamente. Modelos estatísticos apropriados foram utilizados para descrever as fontes de variação do parâmetro a ser analisado.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATHIE, F.; BACHMAN, K.C.; HEAD, H.H.; HAYEN, M.J.; WILCOX, C.J. Estrogen administered at final milk removal accelerates involution of bovine mammary gland. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.79, n.2, p.220-226, Feb. 1996
- ATHIE, F.; BACHMAN, K.C.; HEAD, H.H.; HAYEN, M.J.; WILCOX, C.J. Milk plasmin during bovine mammary involution that has been accelerated by estrogen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.8, p.1561-1568, Aug. 1997.
- BEEDE, D.K. Nutritional management of transition and fresh cows for optimal performance. In: FLORIDA DAIRY PRODUCTION CONFERENCE, 1997, Gainesville. **Proceedings...** Gainesville: University Press, 1997. p.19-25.
- BEEDE, D.K.; WANG, C.; DONOVAN, G.A.; et al. Dietary cation-anion difference in late pregnancy. In: FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 28., 1991, Gainesville. **Proceedings...** Gainesville: University Press, 1991. p.98-105.
- BLOCK, E. Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.67, n.12, p.2939-2948, Dec. 1984.
- BUSHINSKY, D.A.; RIERA, G.S.; FAVUS, M.H.; COE, F.L. Response of serum $1,25(\text{OH})_2$ to variation of ionized calcium during chronic acidosis. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v.249, p.361, 1985.
- CAMERON, R.E.; DYK, P.B.; HERDT, T.H.; KANEENE, J.B.; MILLER, R.; BUCHOLTZ, H.F.; LIESMAN, J.S.; VANDEHAAAR, M.J.; EMERY, R.S. Dry cow diet, management, and energy balance as risk factors for displaced abomasum in high producing dairy herds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.81, n.1, p.132-139, Jan. 1998

- CAPUCO, A.V.; AKERS, R.M.; SMITH, J.J. Mammary growth in Holstein cows during the dry period: quantification of nucleic acids and histology. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.3, p.477-487, Mar. 1997.
- COPPOCK, C.E.; EVERETT, R.W.; NATZKE, R.P.; AINSLIE, H.R. Effect of dry period length on Holstein milk production and selected disorders at parturition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.57, n.6, p.712-721, June 1974.
- DRACKLEY, J.K. Nutritional Management of dairy cows during the transition period. In: FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 1998, Gainesville. **Proceedings...** Gainesville: University Press, 1998. p.38-56.
- EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D.; FARVER, T.; WEBSTER, E.G. A body condition score chart for Holstein Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.72, n.1, p.68-78, Jan. 1989
- ERB, H.N.; GROHN, Y.T. Epidemiology of metabolic disorders in the periparturient dairy cow. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.71, n.11, p.2557-2571, Nov. 1988.
- GAYNOR, P.J.; MUELLER, J.K.; RAMSEY, N.; GOFF, J.P.; HORST, R.L. Parturient hypocalcemia in Jersey cows fed alfalfa haylage-based diets with different cation to anion ratios. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.72, n.10, p.2225-2231, Oct. 1989
- GOFF, J.H.; HORST, R.L.S.; REINHARDT, T.; BUXTON, D.R. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.7, p.1269-1276, July 1997.
- GOFF, J.P.; REINHARDT, T.A.; HORST, R.L.S. Recurring hypocalcemia of bovine parturient paresis is associated with failure to produce 1,25 dihydroxivitamin D. **Endocrinology**, Baltimore, v.125, n.1, p.49-53, Jan. 1989.
- GRANT, R.J.; ALBRIGHT, A. Feeding behavior and management factors during the transition period in dairy cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, n.12, p.2791-2803, Dec. 1995.

- GREEN, H.; HORST, R.L.; BEITZ, D.C.; LITLEDIKE, E.T. Vitamin D metabolites in plasma of cows fed a prepartum low-calcium diet for prevention of parturient hypocalcemia. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.64, n.2, p.217-224, Feb. 1981.
- HEAD, H.H. Artificial induction of lactation. In: MARTINET, J.; HOUDEBINE, L.; HEAD, H. **Biology of lactation**. Paris: INSERM/INRA, 1999. 670p.
- HOLST, B.D.; HURLEY, W.L.; NELSON, D.R. Involution of the bovine mammary gland: histological and ultrastructural changes. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.70, n.5, p.935-944, May 1987.
- HORST, R.L., REINHARDT, T.A. Vitamin D metabolism in ruminants and its relevance to the periparturient cow. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 66, n 6, p. 661-680, June, 1983.
- HORST, R.L.; GOFF, J.P.; REINHARDT, T.A.; BUXTON, D.R. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.7, p.1269-1280, July 1997.
- HUBER, T.L.; WILSON, R.C.; STATTELMAN, A.J. et al. Effect of hypocalcemia on motility of the ruminant stomach. **American Journal Veterinary Research**, Chicago, v.42, p.1488, 1981.
- HURLEY, W.L. Mammary gland function during involution. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.72, n.6, p.1637-1646, June 1989.
- JOYCE, P.W.; SANCHEZ, W.K.; GOFF, J.P. Effect of anionic salts in prepartum diets based on alfalfa. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.11, p.2866-2875, Nov. 1997.
- KICHURA, T.S.; HORST, R.L.; BEITZ, D.C. et al. Relationships between prepartal dietary calcium and phosphorus, vitamin D metabolism and parturient paresis in dairy cows. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.112, p.480, 1982.

MOORE, S.J.; VANDERHAAR, M.J.; SHARMA, B.K.; PILBEAM, T.E.; BEEDE, D.K.; BUCHOLTZ, H.F.; LIESMAN, J.S.; HORST, R.L.; GOFF, J.P. Effects of altering dietary cation-anion difference on calcium and energy metabolism in peripartum cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.83, n.9, p.2095-2104, Sept. 2000.

NOCEK, J.E. Nutrition considerations for the transition cow. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE, 1996, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: University Press, 1996. p.122-137.

OETZEL, G.R.; BARMORE, E.J.A. Intake of a concentrate mixture containing various anionic salts fed to pregnant, nonlactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, n.6, p.1607-1610, June 1993

OETZEL, G.R.; OLSON, J.D.; CURTIS, C.R.; FETTMAN, M.J. Ammonium chloride and ammonium sulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.71, n.12, p.3302-3309, Dec. 1988.

RISCO, C.A. Calving related disorders. In: VAN HORN, H.H.; WILCOX, C.J. (eds). **Large dairy herd management**. Champaign: Management Dairy science Association, 1992. p.192-198.

SANCHEZ, W.K.; GIESY, J.G.; GRIFFEL, L.A. et al. Current strategies to prevent hypocalcemic disorders on western dairies. In: SOUTHWEST NUTRITION MANAGEMENT CONFERENCE, 1997, Phoenix. **Proceedings...** Phoenix, 1997. p.55-64

SHAPPELL, N.W.; HERBEIN, M.H.; DEFTOS, L.J.; AIELLO, R.J.. Effects of dietary calcium and age on parathyroid hormone, calcitonin, and serum and milk minerals in the periparturient dairy cows. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.117, n.1, p.201-207, Jan. 1987.

SHEARER, J.K.; VAN HORN, H.H. Metabolic diseases of dairy cattle. In: VAN HORN, H.H.; WILCOX, C.J. (eds). **Large dairy herd management**. Champaign: Management Dairy science Association, 1992. p.358-372.

STAPLES, C.R.; TATCHER, 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.4, p.938-947, Apr. 1990

SWANSON, E.W.; PARDUE, F.E.; LONGMIRE, D.B. Comparing continuous milking with sixty day dry periods in successive lactations. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.50, n.8, p.1288-1296, Aug. 1967.

VANDERHAAR, M.J.; YOUSIF, G.; SHARMA, B.K.; et al. Energy and protein density of prepartum diets alters fat and protein metabolism of dairy cows in the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.82, n.8, p.1282-1295, Aug. 1999

CAPÍTULO II

CONSUMO DE MATÉRIA SECA

RESUMO

TEIXEIRA, Lucia de Fátima Andrade Correia. **Efeito do estradiol, dietas e período seco sobre o consumo de vacas Holandesas no periparto** Lavras: UFLA, 2001. 150p. (Tese - Doutorado em Zootecnia)¹.

Foram avaliados os efeitos das dietas aniônicas (DA) e catiônicas (DC), associadas ou não ao uso de estradiol em dois períodos secos: período seco curto (30 dias) (PSC) e período seco regular (60 dias) (PSR) sobre o consumo de matéria seca (MS), de 40 vacas Holandesas, no pré-parto (PREP) e pós-parto (PP), distribuídas aleatoriamente em um esquema fatorial 2x2+2. As dietas foram fornecidas por 21 dias no período pré-parto, após o qual, as vacas passaram a receber uma dieta de lactação. As DA não tiveram efeito sobre o consumo de MS no PREP, entretanto, produziram maior consumo quando comparadas à DC no pós-parto. Os contrastes entre tratamentos mostraram que DA produziram aumento no consumo PP no PSR e no PSC associado ao estradiol ($P < 0,01$), sugerindo o efeito das DA sobre a mais rápida recuperação do consumo no PP, entretanto, as dietas aniônicas com PSC sem estradiol resultaram em consumos semelhantes ($P > 0,05$). Quando comparadas dietas com estradiol associado ao período seco de 30 dias com as demais, as primeiras apresentaram menores consumos, o que indica que a utilização de estrógenos exógenos pode reduzir o consumo no pós-parto. Não foram observadas diferenças entre consumo no período seco de 30 dias sem estradiol quando comparado ao período de 60 dias. Os dias em relação ao parto produziram efeito cúbico sobre o consumo ($P < 0,01$), com aumento no consumo logo na primeira semana pós-parto. Tanto o consumo no PRE, quanto no PP, foram menores na estação 2 (temperaturas acima de 26^o C), quando comparados a estação 1 (temperaturas abaixo de 26^oC) ($P < 0,01$). Concluindo, embora não tenha sido detectada diferença entre tratamentos no consumo no PREP, o uso de estradiol no PREP, pode causar redução no consumo PP, sendo que as vacas secas aos 60 dias, que consumiram dietas aniônicas apresentaram maiores consumos no PP, sugerindo a efetividade das dietas aniônicas sobre o controle da hipocalcemia.

¹ Comitê Orientador: Juan Ramon Olalquiaga Pérez (orientador); , H. Herbert Head - University of Florida; José Camisão de Souza – UFLA e Joel Augusto Muniz - UFLA.

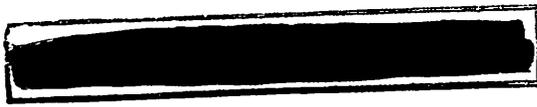
ABSTRACT

TEIXEIRA, Lucia de Fátima Andrade Correia. Effect of anionic and cationic diets fed in prepartum, on feed intake in prepartum and postpartum with different dry periods, associated or not with estradiol injection Lavras: UFLA, 2001.150p. (pHD Thesis in Animal Science)¹.

The effects of anionic and cationic diets, associated or not with estradiol injection were evaluated in 30 days and 60 days dry period on dry matter intake, in prepartum and postpartum. This trial was undertaken at Dairy Research Unit of Florida University, in Gainesville. Forty cows were assigned randomly to diet in a factorial arrangement for 21 days in prepartum. The following treatments were tested: 1. anionic diet, 30 days dry period (AD30) 2. cationic diet and 30 days dry period (CD30), 3. anionic diet, 30 days dry period and estradiol injection (AD30E) 4. cationic diet, 30 days dry period and estradiol injection (CD30E); 5. anionic diet, 60 days dry period (AD60); 6. cationic diet, 60 days dry period (CD60). After calving a standard dairy diet was fed to all cows postcalving for more 21 days. The cows were under two different range of temperatures: up to 26^o C, that calved in Autumn (season 1) and over 26^o c, (extreme temperatures) and calved in summer (season 2). AD did not affect prepartum feed intake, however they increase feed intake when compared to CA in postpartum. The contrasts between treatments showed AD increased postpartum intake in 60 days period ($P < 0.01$) and in 30 days period only when associated with estradiol ($P < 0.01$), suggesting that AD comes the cows faster to feeding, however, AD with 30 days period (AD30) did not affect feed intake, and contrast was not significant ($P > 0,05$). When diets associated with estradiol (AD30E and CD30E) were contrasted with the to others, they showed lower intakes, what means that exogenous estrogen reduces postpartum intake. No differences were observed when 30 days period without estradiol injection were compared to sixty days dry period. The days in relation to peripartum showed cubic effects on intake ($P < 0,01$), increasing the intake in the first week postpartum. Both feed intake in prepartum and postpartum decreased in season 2 (temperature above 26^o C), when contrasted to season 1 (temperaturas up to 26^oC) ($P < 0,01$). In conclusion, however differences between treatments were not detected in prepartum, estradiol injection in prepartum can decrease tfeed intake

¹ Comitê Orientador: Juan Ramon Olalquiaga Pérez (orientador); H. Herbert Head - University of Florida ; José Camisão de Souza – UFLA e Joel Augusto Muniz - UFLA.

in postpartum. The cows fed with anionic in 60 days dry period, showed higher intakes, suggesting the anionic diets prevented hipocalcemia.



1 INTRODUÇÃO

O período de transição refere-se ao tempo compreendido entre 3 semanas anteriores e 3 semanas posteriores a parição e é reconhecido como a fase mais crítica e desafiadora do ciclo de lactação, uma vez que a grande maioria das doenças metabólicas, infecciosas e reprodutivas se origina nesta fase, devido, principalmente, a programas nutricionais inadequados (Drackley, 1998).

A vaca leiteira sofre uma mudança metabólica durante as semanas finais da parição devido a mudanças no consumo alimentar e no estado hormonal, as quais estão associadas à parição e ao início da produção de leite. Estas mudanças, que são mais marcantes que em qualquer outro período durante o ciclo gestação-lactação influenciam o metabolismo dos tecidos e a utilização de nutrientes. A redução no consumo alimentar, iniciada algumas semanas antes da parição, pode atingir entre 10 e 30%, se comparado com o consumo no início do período seco (Drackley, 1998). ao mesmo tempo em que a demanda por nutrientes para sustentar o crescimento do feto e o início da síntese do leite estão aumentando (Grummer, 1995).

O consumo de matéria seca (MS) é fundamentalmente importante na nutrição, uma vez que ele estabelece as quantidades de nutrientes disponíveis para a saúde e produção do animal (NRC, 2001). A maximização do consumo de matéria seca no período de transição pode reduzir a incidência de desordens metabólicas, aumentar a produção e reduzir a perda de escore corporal

Muitas vezes, os produtores negligenciam a alimentação dos animais neste período, partindo do pressuposto de que os animais não estão produzindo e que portanto não apresentam grandes demandas nutricionais. Entretanto, é no período de transição que o feto completa seu desenvolvimento e se prepara para o início da síntese do leite (Grummer, 1995).



Os fatores que influenciam o consumo no pré-parto não são bem definidos e podem estar ligados ao enchimento retículo-rúmen, fatores metabólicos ou consumo de oxigênio (NRC, 2001). No entanto, a densidade e a composição das rações, o escore corporal e doenças metabólicas, principalmente, a hipocalcemia parecem estar relacionadas ao pré-parto, assim como cetose, febre do leite parecem ser as principais responsáveis na redução do consumo no início do período pós-parto.

Embora a febre do leite afete somente uma pequena porcentagem das vacas, 67% das vacas são hipocalcêmicas à parição. Isto não é surpreendente se nós considerarmos que na formação do colostro são gastos nove vezes a quantidade de Ca presente no pool plasmático (Joyce, Sanchez e Goff, 1997). até que seu intestino e ossos se adaptem às demandas de Ca e da lactação. Esta hipocalcemia subclínica contribui para inapetência na vaca recém-parida e pode levar a predisposição de outras doenças como cetose, retenção de placenta, deslocamento de abomaso e mastite (NRC, 2001).

As dietas aniônicas, agem na prevenção da hipocalcemia, atuando sobre os mecanismos de captação de cálcio. Estes mecanismos não são bem definidos. O efeito calcitrófico mais importante das dietas aniônicas é a mobilização dos ossos, via reabsorção óssea, uma vez que os ossos agem como um tamponante contra a acidez sistêmica (Oetzel, 1993). Entretanto outras hipóteses têm sido levantadas, como a ativação dos hormônios calcitróficos: hormônio da paratireóide (PTH) e da 1,25-diidroxivitamina D₃, sendo que o primeiro estimula o segundo, provocando um aumento da quantidade de cálcio, através do aumento dos receptores da mucosa do cólon (Joyce, Sanchez e Goff, 1997). Seja qual for o mecanismo, as dietas aniônicas têm se mostrado uma alternativa viável na mobilização de Ca dos tecidos corporais e manutenção da homeostase de Ca no sangue, evitando o aparecimento de hipocalcemia subclínica e redução do consumo (Block, 1984; Gaynor et al., 1989; Goff e Horst, 1998).

O problema da administração dos sais aniônicos é a baixa palatabilidade, o que pode reduzir o consumo, entretanto sua administração na forma de ração total, misturados à ingredientes mais palatáveis pode melhorar a aceitabilidade (Oetzel, 1988).

A associação das dietas aniônicas ao uso de estradiol em períodos secos curtos tem como objetivo acelerar a involução das glândulas mamárias das vacas (Athie et al., 1996), o que permitiria que as vacas permanecessem maior porcentagem de tempo em lactação, o que seria traduzido em maior produção e rentabilidade para o produtor. Entretanto para que isso ocorra, o animal deve se encontrar em um bom escore corporal (Fergusson e Otto, 1989) e precisa ser alimentado de forma a não reduzir o consumo alimentar.

O presente experimento teve como objetivo avaliar o efeito das dietas aniônicas e catiônicas, fornecidas no pré-parto, sobre o consumo de matéria seca das vacas sobre todo o período de transição, além da avaliação das consequências do uso de estradiol sobre o consumo em animais submetidos ao período seco de 30 dias.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Consumo

À medida que a parição se aproxima, as concentrações de progesterona no sangue diminuem e as de estrogênio, aumentam ou permanecem altas (Grummer, 1995). A alta concentração de estrógenos circulantes pode ser um dos principais fatores que contribuem para diminuir o consumo de matéria seca próximo à parição (Grummer, 1993).

Nas últimas semanas de gestação, ocorrem as maiores demandas de nutrientes pelo feto e placenta (Bell, 1995), enquanto o consumo pode ser reduzido de 10 a 30%, o que leva a mobilização de tecido adiposo, circulando como AGNE. Se esta mobilização for excessiva, o animal pode desenvolver fígado gorduroso e cetose. Assim, o consumo alimentar e o estado de carboidratos são fatores importantes que determinam a extensão da mobilização de gordura, fígado gorduroso e produção de cetonas no fígado. Além disso, o maior consumo aumenta o consumo de Ca, que pode ajudar na minimização de problemas de hipocalcemia e a redução do balanço energético negativo e aumentar a função do sistema imune (Drackley, 1998)

Maiores consumos no pré-parto levam a menores teores de AGNE no plasma e triglicerídeos no fígado.

Vacas que apresentaram patologias no pré-parto apresentaram maior declínio no consumo em relação a vacas não afetadas por doenças, além disso, a maximização no consumo pré-parto pode ajudar a acelerar o consumo de matéria seca no pós-parto (Van Saun e Sniffen, 1996).

2.2 Escore Corporal

O escore corporal, embora subjetivo, é um método prático de se avaliar as reservas de energia corporal em vacas leiteiras.

O sistema proposto por Edmonson (1989) sugere uma classificação em uma escala de 1 a 5 pontos, baseada na avaliação visual de oito regiões distintas do corpo.

Um dos fatores que afeta grandemente o consumo é o escore de condição corporal (ECC), medido através de uma escala de 1 (vacas muito magras) a 5 (vacas muito obesas), segundo metodologia adotada por Edmonson et al. (1989) e tem sido usado para potencializar a mobilização de reservas corporais.

Grummer (1995) observou correlação (0,54) entre o consumo de matéria seca de vacas individuais um dia antes da parição e 21 dias após a parição ($P < 0,01$), sugerindo que vacas que não apresentam consumo adequado antes da parição, não irão recuperar rapidamente o consumo após a parição.

Animais supercondicionados ($>4,0$) apresentam maiores riscos de desenvolvimento de problemas metabólicos e menores consumos após a parição, entretanto a perda de condição corporal não é recomendada, mesmo para vacas com condição corporal excessiva na secagem, pois pode levar à condição de cetose e fígado gorduroso (Oetzel, 1993). Vacas magras, por sua vez, não terão reservas energéticas suficientes para atender e manter sua produção potencial de leite, sendo que modestos ganhos podem ser benéficos se o animal secar excessivamente magro (Oetzel, 1993).

Fergusson e Otto (1989) concluíram que vacas cuja condição corporal cai abaixo de 2,5 apresentam redução na produção de leite e problemas reprodutivos pós-parto.

A perda de ECC é esperada durante a lactação, quando a vaca está mobilizando gordura corporal a fim de atender as exigências energéticas para

lactação. As mudanças típicas observadas variam de 0,5 a 1 unidade de ECC durante os primeiros sessenta dias pós-parto (NRC, 2001), entretanto a perda de peso não pode exceder uma unidade de ECC durante o ciclo de lactação. Se o animal parir com um ECC de 3,5, o escore não deve estar abaixo de 2,5 em qualquer estágio da lactação (Nocek, 1996), para que não haja o risco de mobilização excessiva de mobilização de gordura, que é máxima nas quatro primeiras semanas de lactação.

Entretanto, a categorização dos animais com base no escore corporal também pode categorizar as vacas em grupos que possuem muitas diferenças genéticas, fisiológicas e bioquímicas (NRC, 2001).

2.3 Recomendações de consumo no período de transição

Até muito recentemente, poucas eram as investigações sobre as recomendações de nutrientes em geral, para a vaca de transição, particularmente no pré-parto. Assumia-se que o consumo alimentar e as exigências de nutrientes fossem constantes durante todo o período seco do animal (Grummer, 1995), sem levar em consideração os diferentes estágios pelos quais passam os animais, à medida que o feto se desenvolve e a vaca se aproxima do parto, enquanto a predição de ingestão de matéria seca no pós-parto era baseada somente na teoria da exigência de energia e no balanço energético.

O NRC (2001) passou a enfatizar em sua última edição, as diferentes exigências do animal nos últimos 21 dias de gestação, desenvolvendo uma equação de predição de consumo de MS, em relação aos dias que faltam para o parto, diferenciando novilhas e vacas múltiparas. Quanto ao consumo no pós-parto, desenvolveu-se uma equação de predição, a qual leva em consideração a produção corrigida para 4% de gordura e a semana de lactação, permitindo o ajuste para o consumo reduzido no início da lactação, uma vez que o pico ocorre

somente entre a 10^a e a 14^a semana de lactação. Também não se levou em conta os componentes da dieta, uma vez que quando se formula rações para vacas leiteiras, o objetivo é se estimar o consumo de matéria seca antes de se considerar os ingredientes da dieta.

2.4 Dietas aniônicas e consumo

Na medida em que as dietas aniônicas podem prevenir o aparecimento de hipocalcemia, elas podem ter importantes implicações no sucesso da vaca de transição, uma vez que vacas hipocalcêmicas apresentam redução no consumo de MS, devido à perda do tônus muscular que afeta a função ruminal, redução na motilidade do trato digestivo, principalmente a peristalse intestinal e a passagem da taxa de digesta (Goff and Horst, 1997). Taxas de passagem mais lentas podem ter um efeito negativo sobre o consumo de MS. Entretanto, se for utilizada uma quantidade excessiva de sais aniônicos, ou se estes não forem manejados corretamente, pode reduzir o consumo, uma vez que os sais aniônicos não são palatáveis (Drackley, 1998).

O aparecimento de hipocalcemia ocorre já no pré-parto, a poucos dias antes da parição devido à alta mobilização de Ca para formação do colostro.

Vagnoni e Otzel (1998) observaram redução no consumo de vacas alimentadas com três fontes de sais aniônicos, entretanto, Moore et al. (2000), Block (1984), não observaram diferença no consumo quando forneceram dietas com DCAD de -15 meq/100g e -12,85 meq/kg de MS e -75 e -76 meq/kg para vacas multíparas, evitando o aparecimento de hipocalcemia, embora o primeiro autor tenha observado redução no consumo e aumento da concentração de triglicérides no fígado de novilhas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizadas 40 vacas holandesas multíparas, selecionadas do rebanho da Unidade de Pesquisa de Bovino Leiteiro (Dairy Research Unit – DRU) da Universidade da Flórida distribuídas aleatoriamente a cada um dos seis tratamentos experimentais.

Utilizou-se vacas que estavam comprovadamente prenhes e que apresentaram escore de condição corporal entre 3,25 a 3,75. Devido aos tratamentos experimentais, algumas vacas foram retiradas do rebanho de produção 60 dias antes da data prevista para o parto, obtida de fichas de controle da referida fazenda, tratadas contra endo e ectoparasitas, pesadas e após avaliado o escore de condição corporal, eram alocadas junto às demais vacas do rebanho seco, onde permaneciam em piquetes de alimentação por até 30 dias antes do parto. Após este período, as vacas, foram então trazidas para um sistema de free-stall com solário, quando tinham seus pesos e escores corporais avaliados (1-5, magro a obeso, Edmonson et al., 1989) colocando-se um colar provido de sensor para o sistema de portões “Calan gate” e adaptadas às dietas totais (catiônicas) e às novas instalações, por um período de 9 dias, para que aos 21 dias antes da data prevista do parto, recebessem a respectiva dieta experimental.

Outro grupo de vacas, foi retirado do rebanho de produção aos 30 dias que antecederam à data prevista de parição, utilizando-se o mesmo procedimento do grupo acima, sendo que, os animais cujo tratamento consistia de estradiol, recebiam 2 doses de 10 mg cada, de estradiol cipionato (ECP) (no dia em que foram secas e no dia subsequente) e foram imediatamente alocadas no mesmo galpão das vacas secas aos 60 dias, porém em alas diferentes, no sistema de free-stall. O peso inicial das vacas variou entre 519 e 833 kg e o escore de condição

corporal entre 2,5 a 4,75. Embora inicialmente, tenham sido selecionadas vacas de ECC entre 3,25 a 3,75, fatores de manejo e arraçoamento modificaram esta característica do período mais distante da parição até o período de transição mais próximo à parição. Todas as vacas entraram no período experimental entre 23/06/1999 e 28/10/1999 e pariram entre 23/08/99 e 08/12/99. Os animais foram classificados em dois grupos: os que foram submetidos durante o período experimental a temperaturas médias abaixo de 26^o C e pariram no outono (Estação 1) e os que foram submetidos a temperaturas extremas e pariram no verão, com temperaturas acima de 26^o C (Estação 2). As produções médias na lactação anterior foram de 25 a 36,17 kg/dia

Após a parição, os animais foram novamente pesados, feita a avaliação do escore de condição corporal (ECC) e passavam ao grupo de lactação, onde recebiam a dieta de lactação (Tabela 3).

3.2 Instalações

Os animais foram alojados em instalações de sistema free-stall, constituído por um galpão, coberto com estrutura de metal e provido de ventiladores, onde tinham acesso diariamente, a um solário, para permitir movimentação e onde, os animais, poderiam parir.

O galpão era constituído de duas alas, com um corredor de movimentação central, o qual permitia a movimentação de alimentadores motorizados. Cada ala era provida de dois bebedouros laterais e de comedouros, que davam acesso aos animais, somente através de portões eletrônicos, (vide descrição abaixo) e também de um sistema de lavagem do piso a jato (flushing), que permitia a lavagem diária das instalações.

3.3 Rações experimentais

A composição percentual e bromatológica das dietas fornecidas no pré-parto encontram-se nas Tabelas 1 e 2. As dietas catiônicas, foram obtidas segundo recomendações do NRC (2001) para PB, EE, FDN, FDA, Ell e minerais para vacas secas. Além do atendimento das exigências das mesmas, foi computada a composição mineral de todos os ingredientes da ração para sódio (Na), potássio (Kl), cloro (Cl) e enxofre (S), , incluindo a composição química e percentual do núcleo de minerais da marca Purina Mills e do premix mineral da marca Lakeland Cash Feed Company, ambos desenvolvidos para a Universidade da Flórida. O elemento acidificante utilizado foi cloreto de amônio (NH_4Cl), a fim de se obter o balanço ou diferença cation-ânion (DCAD) desejada na dieta (-136 meq/kg).

TABELA 1. Composição percentual das dietas fornecidas no pré-parto.

Ingredientes (%)	Dieta Aniônica (% MS)	Dieta Catiônica (%MS)
Silagem de milho	48,24	49,36
Feno de alfafa	4,16	4,25
Milho	14,98	15,32
Polpa Citrica	6,66	6,81
Resíduos de destilaria	9,98	10,21
Caroço de Algodão	4,16	4,26
Farelo de Soja	6,66	6,81
Núcleo Mineral	4,16	2,55
Premix Mineral	0,17	0,43
Cloreto de Amônio	0,83	-
TOTAL	100	100

TABELA 2. Composição Bromatológica das Dietas Fornecidas a Vacas Holandesas durante o período pré-parto.

Composição(%)	Dieta Aniônica (% MS)	Dieta Catiônica (% MS)
MS	51,16	50,60
PB	15,97	15,92
FDA	25,36	25,93
FDN	37,09	37,86
NDT	63,41	64,87
ELL (Mcal/kg)	1,59	1,62
CNE	36,57	37,49
Ca	1,55	1,15
P	0,41	0,41
Mg	0,34	0,30
K	1,40	1,43
Na	0,12	0,20
S	0,33	0,27
Cl	1,31	0,78
DCAD (meq/kg)	-136	+73

Composição dos alimentos analisada no Forage Laboratory, Ithaca, NY.

3.4 Manejo e arraçamento

Uma vez removidas para o sistema de free-stall, as vacas recebiam a mesma ração catiônica, por um período de aproximadamente 14 dias, após o qual, passavam a receber por um período de 21 dias, a respectiva ração, ou seja, continuavam a receber a ração catiônica ou passavam a receber dieta aniônica.

Foram tomadas amostras diárias de urina dos animais para determinação do pH, usando-se um peagâmetro automático. Como não se utilizou cateter, a urinas era recolhida pela manhã, utilizando-se um pote plástico para coleta assim que o animal expelia o primeiro jato. Esta metodologia não permitiu que se coletasse a urina de todos os animais todos os dias, obtendo-se diferente número

de amostras, utilizando-se o valor médio de pH de todas as amostras coletadas por animal.

As rações foram fornecidas na forma de ração total, determinando-se semanalmente, ou sempre que se mudava o lote, a matéria seca do feno e das silagens. O concentrado era armazenado já misturado em um reservatório, o qual era misturado diariamente aos volumosos em misturadores automáticos e fornecido aos animais entre 10 e 12 h , após recolhidas todas as sobras das rações do dia anterior, as quais eram computadas, para se determinar, posteriormente, o consumo. As quantidades eram recalculadas diariamente, para permitir uma sobra de no mínimo 10% do fornecido. A medida em que os animais comiam, as rações se espalhavam, uma vez que as rações eram depositadas no chão do glapão e não haviam comedouros. O acesso dos animais às rações se tornava difícil, por isso duas vezes por dia se juntava as rações e as redirecionava para o respectivo animal, que eram alimentados somente uma vez ao dia. Cada vaca tinha acesso somente à sua ração, através de sensores colocados em colares, que abriam somente o portão que dava acesso à sua ração, no sistema de portões eletrônicos (Sistema Calan-Gate, American Calan, Inc., Northwood, NH), o que permitia calcular exatamente o consumo de cada vaca.

Após o parto, as vacas foram pesadas, avaliado o ECC e transferidas para a ala do grupo de lactação, sob a mesma instalação, quando passavam a receber a dieta de lactação na forma de ração total, baseada em silagem de milho e sorgo, feno de alfafa, caroço de algodão, polpa cítrica e mistura de grãos concentrados (Tabela 3) . Uma vez por semana, as rações aniônicas, catiônicas e de lactação eram amostradas. Posteriormente, foram misturadas, amostradas (cerca de 40 g) e enviadas para o NEDHIA Forage Laboratory (Ithaca, NY) para análise de MS, PB, FDA, FDN, PB, NDT e EE.

TABELA 3. Composição da dieta fornecida no pós-parto.

Ingredientes	Dieta pós-parto (%MS)
Feno de alfafa	13,81
Silagem de milho	17,90
Silagem de sorgo	1,58
Caroço de algodão	11,33
Polpa cítrica	12,82
Milho grão	19,18
Farelo de soja	10,18
Resíduos de destilaria	9,37
Premix mineral*	3,78
Biocycle Plus**	0,05
TOTAL	100
Composição Química	%
Matéria seca	61,69
Proteína Bruta	17,92
Na	0,08
K	1,28
Cl	0,56
S	0,30
NDT	71,16
Energia líquida de lactação (EII)	1,76
Fibra em detergente neutro (FDN)	32,77
Fibra em detergente ácido (FDA)	22,15
Diferença Cátion-ânion (DCAD)	+2,44

*Equivalente protéico de NNP=22,8, cálcio=mínimo de 8,5 e máximo de 9,5, P=mínimo de 0,1, sal= mínimo de 2, máximo de 2,5, Na=mínimo de 7,5, máximo de 7,9 K=mínimo de 3, Se=mínimo de 7 ppm, vitamina A=mínimo de 64.000 UI/lb Todos os componentes estão expressos em %

**Biocycle Plus= resíduo de destilaria seco, carbonato de cálcio, ovo seco, ácido aspártico, ácido láctico, lactato de Ca, mononitrato de tiamina, ácido cítrico, pantotenato de cálcio, ácido fumárico, levedura seca ativa, K iodado, dióxido de sílica, produzido por Select Sires, Inc.

O sistema de arração utilizado no pós-parto, foi o mesmo adotado no pré-parto, com ajuste de quantidades, sistema Calan-gate e controle do consumo, a fim de avaliar o efeito das dietas do pré-parto, sobre o consumo no pós-parto e lactação.

3.5 Tratamentos

Foram utilizados seis tratamentos, nos quais se associou o período em que o animal permaneceu seco, tipo de dieta, aniônica ou catiônica, e como tratamentos suplementares, aplicação de estradiol cipionato (ECP), ficando constituídos como se segue abaixo:

- 1 Dieta aniônica, associada ao período seco de 30 dias;
- 2 Dieta catiônica, associada ao período seco de 30 dias;
- 3 Dieta aniônica, associada ao período seco de 30 dias e aplicação de estradiol;
- 4 Dieta catiônica, associada ao período seco de 30 dias e aplicação de estradiol;
- 5 Dieta aniônica, associada ao período seco de 60 dias;
- 6 Dieta catiônica, associada ao período seco de 60 dias.

3.6 Delineamento estatístico

As vacas foram distribuídas aleatoriamente em delineamento inteiramente casualizado, em um esquema fatorial $(2 \times 2) + 2$, constituído por 2 períodos secos (30 e 60 dias), 2 tipos de ração (aniônica e catiônica) e dois

tratamentos adicionais (uso ou não de estradiol somente para o período seco de 30 dias), perfazendo 6 dietas.

Foram utilizados 40 animais, em um modelo desbalanceado, sendo que as repetições dos tratamentos 1,2,3,4,5 e 6 foram constituídos de 6, 6, 6, 7, 8 e 7 vacas, respectivamente, segundo o seguinte modelo estatístico, utilizado para descrever a ingestão de matéria seca:

$$Y_{ijklm} = \mu + t_i + p_j + tp_{ij} + e_{ijk} + d_l + td_{il} + pd_{jl} + tpd_{ijl} + e_{ijkl}$$

onde:

Y_{ijk} = variável dependente;

μ = média geral

t_i = efeito dos tratamentos i ($i=1,2,3,4,5,6$);

p_j = efeito das estações de parição j ($j=1,2$);

tp_{ij} = efeito da interação entre os tratamentos i e as estações de parição j ;

e_{ijk} = erro experimental da subparcela a associado ao efeito de vaca k no tratamento i e estação de parição j , que por hipótese; apresenta distribuição normal e independente, média 0 e variância σ_a^2

d_l = efeito da observação dos dias de coleta de sobras l em relação ao parto ($l=1 \dots 22$);

td_{il} = efeito da interação entre os tratamentos i e os dias em relação ao parto l ;

pd_{jl} = efeito da interação entre estação de parição j e os dias em relação ao parto l ;

tpd_{ijl} = efeito da interação entre os tratamentos i , a estação de parição j e os dias em relação ao parto l ;

e_{ijkl} = erro residual que por hipótese apresenta distribuição normal e independente, média 0 e variância σ^2

3.7 Análises experimentais e estatísticas

Foi analisada a ingestão de matéria seca no pré e no pós-parto. As análises estatísticas foram efetuadas, utilizando-se os procedimentos dos modelos lineares gerais (PROC GLM) e REG do programa computacional SAS (1996).

Para se avaliar os efeitos de dietas no pós-parto, utilizou-se os contrastes esquematizados na Tabela 4:

TABELA 4. Contrastes utilizados para se determinar as diferenças ocorridas no consumo entre as dietas no pós-parto

Contrastes	Coeficientes					
Dieta 1 * Dieta 2	-1	+1	0	0	0	0
Dieta 3 * Dieta 4	0	0	-1	+1	0	0
Dieta 5 * Dieta 6	0	0	0	0	-1	+1
Dietas 1 e 2 * Dietas 5 e 6	-1	-1	0	0	+1	+1
Dietas 3 e 4 * Dietas 1, 2, 5, e 6	-1	-1	+2	+2	-1	-1

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Consumo no pré-parto

Na tabela 2A, encontram-se os consumos médios diários das dietas no período pré-parto até o dia do parto, ou seja, no período compreendido pelos 21 dias imediatamente anteriores ao parto (denominado de dia 0), foram codificados como números negativos.

Através dos valores de pH urinário (Tabela 6), podemos observar a efetividade da diferença cátion-ânion das dietas (DCAD), uma vez que as dietas aniônicas resultaram em pH sanguíneo dentro da amplitude recomendada de 5,5 a 6,0 (Horst et al., 1997), Goff et al. (1997). Entretanto não foram observadas diferenças estatísticas entre as dietas ($P>0,05$) (Tabela 1 A), o que demonstra que as dietas aniônicas não tiveram efeito sobre o consumo, uma vez que, problemas de palatabilidade dos sais aniônicos são apontados como a principal restrição ao uso destas dietas para vacas leiteiras (Oetzel et al., 1993; Grant e Albright, 1995), principalmente, quando se utiliza sais como o cloreto de amônio.

Os consumos médios diários observados dos animais alimentados com dietas aniônicas, foram superiores aos observados por Oetzel et al. (1988), (9 e 8,4 kg de MS/dia) ao utilizarem sais de amônio, para vacas multíparas, em dietas com DCAD de -76 e -75 meq/kg. Entretanto os valores observados neste trabalho se mostraram inferiores, aos valores observados por Moore et al. (2000) nas últimas duas semanas que antecedem ao parto, ao fornecer dietas aniônicas de -15 meq/100 g de DCAD, obtendo consumo médio diário de 13 kg para vacas multíparas. Vagnoni e Oetzel (1998), obtiveram consumos de 15,4 e 14,9 kg/dia, embora as dietas utilizadas por estes autores, apresentassem DCAD de somente -40 e -63 meq/kg de DCAD, e o consumo tenha sido medido apenas por

2 dias, do 7^o ao 5^o dia. Uma vez que o peso obtido nestes experimentos não foi expresso com base no peso metabólico, o que pode dar margem a muitas variações, sem falar da diversidade das condições experimentais, utilizou-se a equação de predição de consumo, indicada como adaptada pelo NRC (2001), para se avaliar se os consumos observados estavam dentro das recomendações, levando-se em consideração o tempo de gestação de cada animal.

De acordo com os valores observados na Tabela 5, também não foram observadas reduções significativas no consumo, com o uso de estradiol (tratamentos 3 e 4), ($P > 0,05$)

Em relação aos dias que antecedem a parição, observou-se efeito cúbico sobre o consumo, ($P < 0,05$) (Tabela 2A), observando-se que a segunda semana foi a que apresentou maior consumo médio (tabela 5), principalmente na estação 1; provavelmente porque a partir da primeira semana, os animais já estivessem devidamente adaptados às rações e ao sistema de portões com sensores (Calan gate), o que sugere que o período de adaptação, embora planejado para 14 dias, devido a antecipação do dia de parição de algumas vacas, tenha sido desigual entre os animais, o que talvez tenha interferido no consumo.

Na Tabela 5, encontram-se os valores de consumos semanais, que foram analisados devido ao fato de que muitos trabalhos usam este tipo de classificação, a fim de permitir melhor visualização ao leitor, habituado a analisar os resultados de consumo desta maneira. Embora os animais possam sofrer redução de até 30% na última semana que antecede o parto, devido a variações nas concentrações hormonais e fatores fisiológicos (Drackley, 1998), não foram observadas reduções no consumo, somente na estação 1 ocorreu redução de 7%.

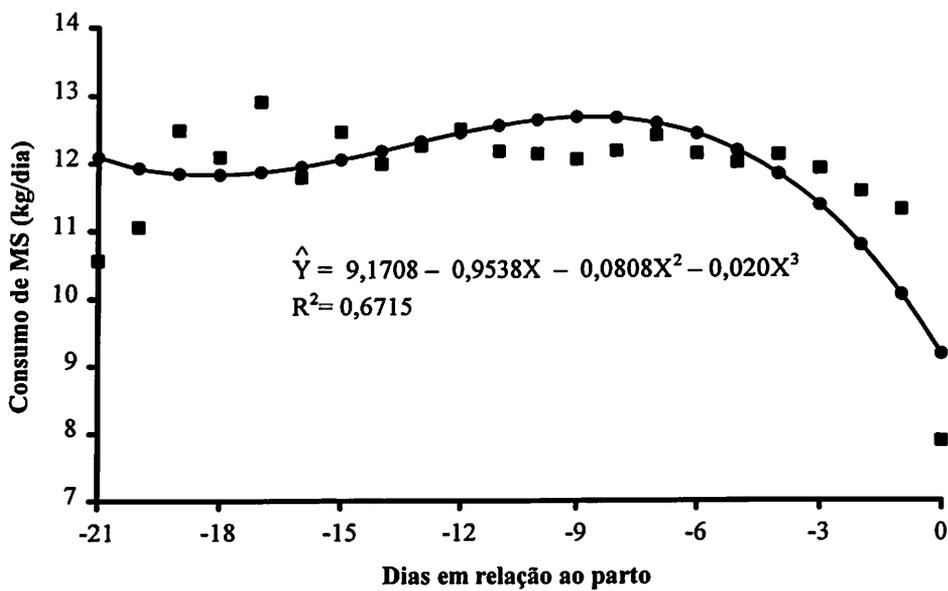


FIGURA 1. Consumo no pré-parto (kg de MS) em relação aos dias do parto.

FIGURE 1. Prepartum intake (kg of DM) in relation to days to calving.

TABELA 5. Consumo médio das dietas , expresso em kg de MS, em relação às semanas que antecedem o parto

TABLE 5. Average feed intake of diets, as kg of DM, according to weeks before calving.

Semanas (Weeks)	Dietas (Diets)						Médias (Means)
	1	2	3	4	5	6	
Estação 1 (Season 1)							
1	14,29	13,81	11,69	12,59	12,08	12,77	12,88
2	13,81	14,13	12,97	13,12	11,66	13,18	13,15
3	11,76	12,34	11,45	12,56	11,35	12,75	12,04
Média (Means)	13,29	13,43	12,04	12,77	11,70	12,90	12,69
Estação 2 (Season 2)							
1	10,21	11,77	10,59	9,61	11,55	11,83	10,93
2	10,11	12,32	12,05	9,36	10,91	12,32	11,18
3	9,81	11,79	11,21	9,81	10,08	11,82	10,75
Média (Means)	10,05	11,96	11,28	9,60	10,85	11,99	10,95

Também se observou diferença ($P < 0,01$) (tabela 1A) no consumo de MS entre as estações (Figura 2) sendo que as vacas submetidas a temperaturas extremas (verão), com temperaturas acima de 26° C, apresentaram redução no consumo, quando comparadas às vacas que pariram em estação com temperaturas abaixo de 26° C. Os consumos médios, expressos em porcentagem do peso corporal estão dentro dos valores preditos pela equação do NRC (2001) (Tabela 7), na estação 1 (12,88 x 12,66 kg de MS/dia), entretanto, os mesmos se encontram abaixo das recomendações na estação 2, (11,09 x 13,10 kg de MS/dia).

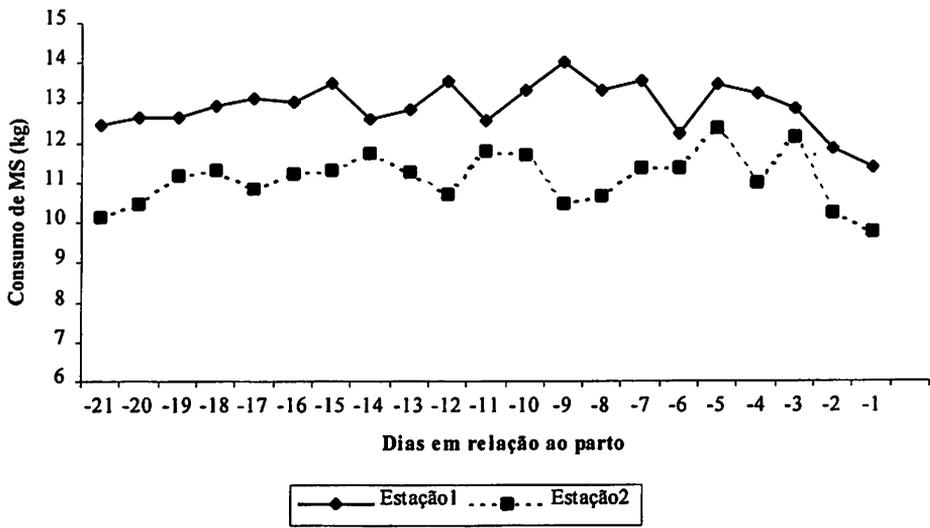


FIGURA 2. Consumo no pré-parto (kg de MS) em relação às estações de parição

FIGURE 2. Prepartum intake (kg of DM) according to calving seasons

TABELA 6. Valores médios de pH urinário, peso corporal (PC) e escore de condição corporal (ECC) à secagem, PC e ECC à parição, PC e ECC à 10ª semana de lactação

TABLE 6 Average values of urinary pH, body weight (BW) and body condition score (BCS) to drying, BW and ECC to calving and to 10th week of lactation

Dietas Diets	pH urinário <i>urinary pH</i>	PC inicial <i>InitialBW</i>	PC à parição <i>Calving BW</i>	PC 10ª Sem. De lactação <i>BW 10 w</i>	ECC inicial <i>Initial BCS</i>	ECC a parição <i>BCS at calving</i>	ECC 10ª sem. Lactação <i>BCS 10w</i>
ESTAÇÃO 1 SEASON 1							
1	5,50	625,96	577,21	580,26	3,20	3,38	3,25
2	7,30	735,96	680,40	647,89	3,63	3,58	3,42
3	6,00	587,40	584,39	577,21	3,50	3,38	3,50
4	7,25	686,60	696,28	672,08	3,75	—	3,62
5	5,80	598,74	627,10	568,13	3,16	3,34	3,03
6	8,00	651,18	628,58	634,13	3,50	3,38	3,50
Médias		647,64	632,33	613,28	3,46	3,41	3,39
ESTAÇÃO 2							
1	5,80	717,48	630,50	644,27	3,22	3,50	3,25
2	7,43	703,76	686,98	621,43	3,00	3,25	3,50
3	5,90	692,95	579,10	570,00	3,25	3,41	3,00
4	8,00	604,31	620,37	541,49	3,00	3,34	3,25
5	6,00	655,11	667,02	610,09	3,22	3,29	3,19
6	7,70	633,90	658,85	649,78	3,13	3,25	3,38
Médias		667,92	640,47	606,18	3,14	3,34	3,26

TABELA 7. Escore de condição corporal (ECP), peso corporal (PC) (kg) e consumo médio diário no pré-parto por dieta expresso em kg e em porcentagem do peso corporal e valores recomendados segundo equação de predição do NRC (2001)*.

TABLE 7. Body condition score (BCS), body weight (BC) (kg) and daily average intake in peripartum both as kg and as % of body weight and recommended values as prediction equations from NRC (2001)*.

Diets (Diets)	ECP (BCS)	PC (kg) (BW, kg)	Valores Observados (Observed Values)		Valores Preditos – NRC (Predicted Values- NRC)	
			Consumo (kg) (Feed intake, kg)	Consumo (%PC) (Feed intake, %BW)	Consumo (kg) (Feed intake, kg)	Consumo (%PC) (Feed intake, kg)
ESTAÇÃO 1						
1	3,25	625,96	13,60	2,17	12,31	1,96
2	3,42	735,97	13,75	1,86	14,40	1,95
3	3,50	587,40	12,24	2,08	11,53	1,96
4	3,63	686,60	12,82	1,86	13,26	1,93
5	3,03	598,74	11,79	1,97	11,76	1,96
6	3,50	651,18	13,03	2,00	12,68	1,94
MÉDIA	3,39	647,64	12,87	1,99	12,65	1,95
ESTAÇÃO 2						
1	3,19	717,48	10,23	1,42	13,99	1,95
2	3,50	703,76	11,99	1,70	13,83	1,96
3	3,17	692,95	11,46	1,65	13,63	1,96
4	3,19	604,31	9,73	1,61	11,86	1,96
5	3,19	655,11	11,02	1,68	12,86	1,96
6	3,38	633,90	12,11	1,91	12,43	1,96
MÉDIA	3,27	667,92	11,09	1,66	13,10	1,96

* Equação de predição para vacas: $CMS (\% \text{ do PC}) = 1,97 - 0,75^{0,16t}$, onde t significa tempo= dias de gestação – 280.

* Prediction equation for cows: $DMI(\% \text{ of BW}) = 1,97 - 0,75^{0,16t}$, where t means time=days pregnant - 280.

4.2 Consumo no pós-parto

Foram observadas diferenças entre as dietas ($P < 0,01$), (Tabela 1 A), sendo que a dieta aniônica, associada ao período seco de 60 dias no pré-parto, aumentou o consumo no pós-parto, quando comparada à dieta catiônica, associadas ao mesmo período seco (18,41 x 15,79 kg de MS), (Tabela 4 A e 5 A), o que sugere que animais consumindo dieta aniônica no pré-parto, podem recuperar o consumo mais rapidamente após o parto.

A dieta aniônica também resultou em maior consumo ($P < 0,01$), sobre as vacas secas aos 30 dias que foram alimentadas com dieta aniônica no pré-parto, suplementadas com estradiol (tratamento 3) quando comparadas às vacas com o mesmo período de secagem e suplementação com estradiol, mas que receberam dieta catiônica (tratamento 4) (18,24 x 13,76 kg de MS), o que mostra que a associação de estradiol com a dieta aniônica no período seco de 30 dias, foi mais efetiva sobre o consumo no pós-parto, do que quando se associou o estradiol à dieta catiônica, sugerindo que o estradiol produz mais rápida proliferação celular de células epiteliais, sem interferir no consumo, quando o animal não apresenta hipocalcemia e é capaz de mobilizar maiores quantidades de Ca para o leite, ativado pelos mecanismos de captação de Ca desencadeados pela dieta aniônica.

Ao se comparar vacas secas com o mesmo período seco curto, variando o tipo de dieta (aniônica ou catiônica) consumida no pré-parto, não houve diferença de consumo entre os animais que receberam dietas aniônicas ou catiônicas ($P > 0,05$) (16,73 x 17,74 kg de MS/dia).

Quando comparadas às dietas associadas ao período seco de 30 dias sem uso de estradiol (dieta 1 e dieta 2) com as dietas associadas ao período seco de 60 dias (dieta 5 e 6), (17,34 x 17,10 kg de MS) não observou-se diferença entre as mesmas ($P > 0,05$).

Em relação ao uso do estradiol, os resultados sugerem que ele só tem efeito sobre o consumo, quando associado à dietas aniônicas, uma vez que quando se comparou dietas associadas ao estradiol (dietas 3 e 4) com todas as outras (dietas 1, 2, 5 e 6), as primeiras apresentaram médias inferiores em relação as demais ($P < 0,01$) (15,94 x 17,22 kg de MS).

Foram observados efeito de dias após a parição sobre o consumo (Tabela 6 A), ($P < 0,01$) (Figura 3), com aumentos acentuados imediatamente após a parição, atingindo um consumo médio de 17,99 kg de MS, logo após a primeira semana de lactação, o qual está acima da recomendação do consumo mínimo diário para vacas holandesas feita por Grummer (1998), de 15 a 17 kg ao fim da primeira semana após a parição, para vacas de 700 kg (Tabela 9), o que indica um aumento rápido e alto do consumo de matéria seca logo após a parição, o qual é essencial para fornecer energia e nutrientes para a sustentar o aumento da produção de leite.

Quando comparadas às médias de consumo observadas com as médias preditas pelo NRC (Tabela 11), levando-se em conta a semana de lactação, as mesmas se encontram dentro das recomendações do NRC, em ambas as estações e para todos os tratamentos.

As médias do consumo no pós-parto, em relação a estação de parição mais quente (acima de 26°C) (estação 2), semelhante ao que ocorreu no pré-parto, foram inferiores às médias de consumo das vacas que pariram na estação mais amena (estação 1), com redução de 17,87% (18,41 x 15,12 kg de MS), ($P < 0,01$), o que está de acordo com a observação de que animais que apresentam maior ingestão no pré-parto, também apresentam maior ingestão no pós-parto (Grummer, 1995), (Figura 4).

O escore corporal ao fim da 10^a semana de lactação (Tabela 7) está de acordo com as recomendações de Nocek (1996), uma vez que nenhum dos

tratamentos, em nenhuma das estações, produziu redução acima de 1 unidade de ECC, na parição, o que nos sugere que as vacas não estejam mobilizando tecido corporal no processo produtivo.

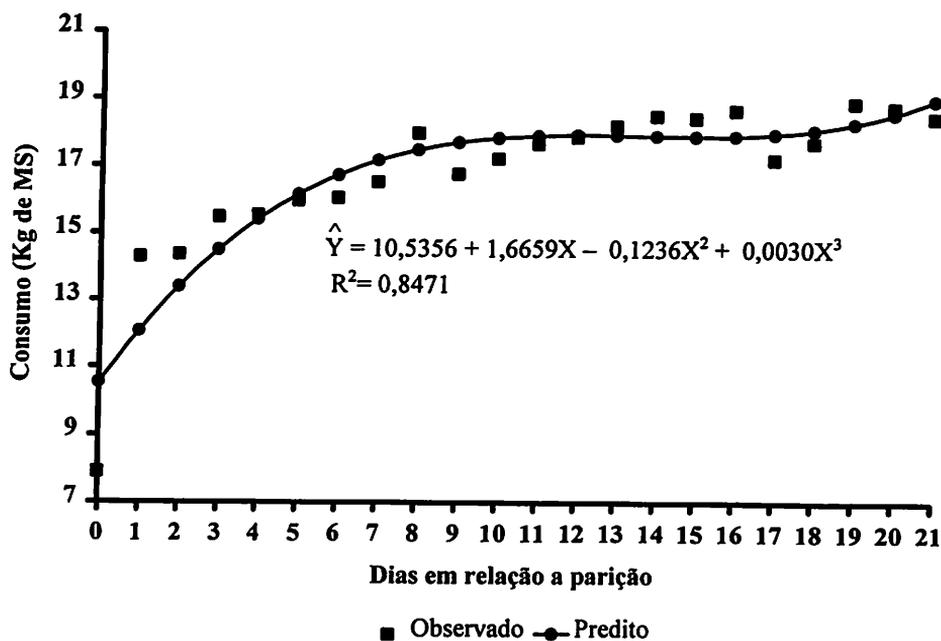


FIGURA 3. Consumo no pós-parto (kg de MS) em relação aos dias do parto.

FIGURE 3. Postpartum intake (kg of DM) in relation to days to calving.

TABELA 8. Consumo médio observado das dietas, expresso em kg de MS, e o consumo predito segundo equação do NRC* em relação às semanas e estações posteriores ao parto

TABLE 8. Average feed intake of diets observed, as kg of DM, and predicted intake as NRC equation*, according to weeks and seasons postpartum.

Dietas	Consumo observado				Consumo esperado (NRC) [*]			
	1	2	3	Médias	1	2	3	Médias
ESTAÇÃO 1								
1	16,43	20,57	21,67	19,56	10,91	13,55	16,80	13,75
2	15,81	18,62	21,58	18,67	11,74	15,28	17,00	14,67
3	17,56	20,55	21,85	19,99	10,47	14,03	16,49	13,66
4	13,26	15,05	16,64	14,98	11,00	14,92	17,08	14,33
5	15,74	19,75	21,60	19,03	12,02	14,76	17,95	14,91
6	16,50	19,34	18,63	18,16	12,31	16,02	17,82	15,38
Médias	15,88	18,98	20,33	18,38	11,40	14,76	17,19	14,45
ESTAÇÃO 2								
1	12,31	14,01	16,19	14,17	10,96	13,22	14,97	13,05
2	11,58	18,75	19,30	16,54	11,73	11,65	15,73	13,03
3	14,38	19,35	15,60	16,44	11,21	15,05	16,22	14,16
4	11,45	11,78	13,52	12,25	10,16	13,34	13,15	12,22
5	15,18	16,92	18,73	16,94	12,73	15,58	17,81	15,37
6	10,42	12,53	16,38	13,11	10,32	13,15	14,74	12,74
Médias	12,55	15,56	16,62	14,91	11,19	14,00	15,94	13,71

* NRC (2001)

$$\text{CMS (kg/dia)} = (0,372 \times \text{FCL} + 0,0968 \times \text{PC}^{0,75}) \times (1 - e^{-(0,192 \times \text{Sem de lact.} + 3,67)})$$

Onde FCL= leite corrigido para 4% de gordura, PC= peso corporal

$$\text{DMI (kg/d)} = 0,372 \times \text{FCM} + 0,0968 \times \text{BW}^{0,75} \times (1 - e^{-(0,192 \times (\text{WOL} + 3,67)})}$$

where FCM=4% percent corrected fat milk (kg/day), BW=body weight (kg), and WOL= week of lactation

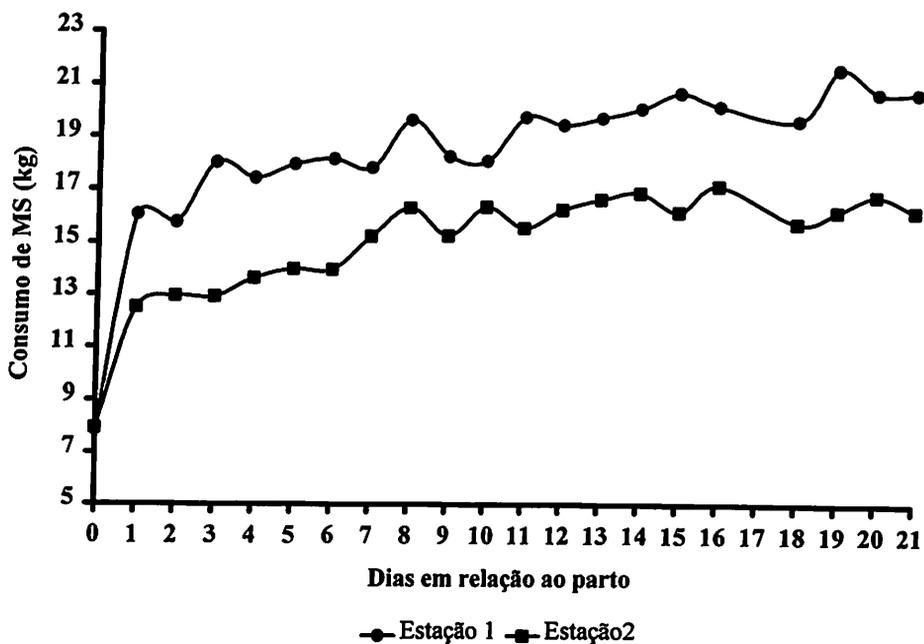


FIGURA 4. Consumo no pós-parto (kg de MS) em relação às estações de parição.

FIGURE 4. Postpartum intake (kg of DM) according to calving seasons.

5 CONCLUSÕES

Os dados indicam que as dietas aniônicas associadas ao período seco de 60 dias são viáveis na dieta de vacas no pré-parto, uma vez que o DCAD utilizado foi efetivo na redução do pH sanguíneo, induzindo uma acidose metabólica subaguda. A palatabilidade das rações não alterou o consumo no pré-parto, o que levou a um aumento do consumo no pós-parto.

Altas temperaturas reduziram o consumo, tanto no pré quanto no pós-parto, embora estivessem dentro do predito pelo NRC, nas duas estações.

Não houve diferença entre consumo pós-parto, para vacas com períodos secos de 30 dias, quando comparado ao consumo observado em vacas secas aos 60 dias.

Quando o período seco de 30 dias foi associado ao estradiol, e à dietas aniônicas, resultou em um maior consumo, semelhante ao da dieta aniônica, associada ao período seco de 60 dias, entretanto, dietas associadas à estradiol produzem menores consumos que as demais, o que parece indicar que o uso de estrógenos exógenos reduzem o consumo no pós-parto.

As vacas apresentaram uma recuperação rápida no consumo, logo na primeira semana pós-parto, o que pode estar relacionado à condição adequada de escore corporal médio dos animais.

Os resultados sugerem que animais consumindo dietas aniônicas no pré-parto com um período seco de 60 dias, não apresentam hipocalcemia e portanto, podem recuperar o consumo mais rapidamente no pós-parto.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATHIE, F.; BACHMAN, K.C.; HEAD, H.H.; HAYEN, M.J.; WILCOX, C.J. Estrogen administered at final milk removal accelerates involution of bovine mammary gland. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.79, n.2, p.220-226, Feb. 1996
- BELL, A.W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal of Anima Science**, Champaign, v.73, n.9, p.2804-2819, Sept. 1995.
- BLOCK, E. Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.67, n.12, p.2939-2948, Dec. 1984.
- DRACKLEY, J.K. Nutritional Management of dairy cows during the transition period. In: FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 1998, Gainesville. **Proceedings...** Gainesville: University Press, 1998. p.38-56.
- EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D.; FARVER, T.; WEBSTER, E.G. A body condition score chart for Holstein Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.72, n.1, p.68-78, 1989
- FERGUSON, J.D.; OTTO, K.A. Manipulating body condition in cows. In: Proceedings CORNELL NUTRITION CONFERENCE FEED MANUFACTURERS CONFERENCE, 1989, **Proceedings...** 1989. p.75-87.
- GAYNOR, P.J.; MUELLER, J.K.; RAMSEY, N.; GOFF, J.P.; HORST, R.L. Parturient hypocalcemia in Jersey cows fed alfalfa haylage-based diets with different cation to anion ratios. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.72, n.10, p.2225-2231, Oct. 1989
- GOFF, J.H.; HORST, R.L.; REINHARDT, T.A.; BOXTON, D.R. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.7, p.1269-1280, July 1997.

GRANT, R.J.; ALBRIGHT, A. Feeding behavior and management factors during the transition period in dairy cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, n.12, p.2791-2803, Dec. 1995.

GRUMMER, R.R. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, n.12, p.3882-3890, Dec. 1993.

GRUMMER, R.R.; HOFFMAN, P.C.; LUCK, M.L.; BERTICS, S.J. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, n.9, p.2820-2833, Sept. 1995.

HORST, R.L.; GOFF, J.P.; REINHARDT, T.A.; BUXTON, D.R. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.7, p.1269-1280, July 1997

JOYCE, P.W.; SANCHEZ, W.K.; GOFF, J.P. Effect of anionic salts in parturient diets based on alfalfa. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.11, p.2866-2875, Nov. 1997.

MOORE, S.J.; VANDERHAAR, M.J.; SHARMA, B.K.; PILBEAM, T.E.; BEEDE, D.K.; BUCHOLTZ, H.F.; LIESMAN, J.S.; HORST, R.L.; GOFF, J.P. Effects of altering dietary cation-anion difference on calcium and energy metabolism in periparturient cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.83, n.9, p.2095-2104, Sept. 2000.

NOCEK, J.E. Nutrition considerations for the transition cow. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE, 1996, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: University Press, 1996. p.122-137.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of dairy cattle. 7.ed. Washington: National Academic Press, 2001. 381p.

OETZEL, G.R.; BARMORE, J.A. Intake of a concentrate mixture containing various anionic salts fed to pregnant, nonlactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, n.6, p.1617-1623, June 1993.

OETZEL, G.R.; OLSON, J.D.; CURTIS, C.R.; FETTMAN, M.J. Ammonium chloride and ammonium sulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.71, n.12, p.3302-3309, Dec. 1988.

SAS INSTITUTE. **Language and procedures: Syntax**, version 6.12, Cary: 1996. 176 p.

VAGNONI, D.B.; OETZEL, G.R. Effects of dietary cation-anion difference on the acid-base status of dry cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.81, n.6, p.1643-1652, June 1998.

VAN SAUN, R.J.; SNIFFEN, C.J. Nutritional management of the pregnant cow to optimize health, lactation and reproductive performance. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.59, n.1/2, p.13-26, June 1996.



CAPÍTULO III
PARÂMETROS SANGUÍNEOS



RESUMO

TEIXEIRA, Lucia de Fátima Andrade Correia. **Efeito do estradiol, dietas e período seco sobre os metabólitos e insulina de vacas Holandesas.** Lavras: UFLA, 2001.150p. (Tese - Doutorado em Zootecnia)¹.

Foram avaliados os efeitos de dietas aniônicas e catiônicas, associadas ou não ao uso de estradiol nos períodos secos de trinta e sessenta dias sobre alterações nas concentrações de hematócrito (HEMA), proteína plasmática (PPL), glicose (GLI), insulina (INS), ácido graxo não esterificado (AGNE) no plasma de 40 vacas holandesas, no período periparturiente, distribuídas aleatoriamente em um esquema fatorial 2x2+2. As dietas foram fornecidas por 21 dias no pré-parto, após o qual, as vacas passaram a receber uma dieta de lactação. O uso de dietas aniônicas associadas ou não ao estradiol, não produziu alterações nos parâmetros sanguíneos estudados em nenhum dos dois períodos secos. As concentrações médias de todos os parâmetros sanguíneos estudados ficaram dentro dos níveis recomendados. Temperaturas mais elevadas (acima de 26^o C, estação 2) não afetaram as variáveis analisadas, quando comparadas a temperaturas abaixo de 26^o C (Estação 2), com exceção da proteína, que sofreu uma redução acentuada em torno da parição, devido à redução do consumo. Entretanto, logo após a parição, observou-se um aumento acentuado, indicando que as dietas suprimiram as exigências protéicas no início da lactação, quando as vacas recuperaram o consumo. As concentrações de insulina e glicose plasmática foram reduzidas em torno da parição, o que sugere uma intensa utilização desta na formação de lactose, excedendo sua absorção e síntese, enquanto as concentrações de AGNE observadas neste ensaio foram consideradas normais e embora continuassem altas após a primeira semana de lactação, mesmo com maiores consumos, não foram indicativas de cetose, sugerindo a efetividade das dietas aniônicas na recuperação do consumo pós-parto e conseqüentemente, do maior aporte de nutrientes.

¹ Comitê Orientador: Juan Ramon Olalquiaga Pérez (orientador);, H. Herbert Head - University of Florida José Camisão de Souza - UFLA e Joel Augusto Muniz - UFLA.

ABSTRACT

TEIXEIRA, Lucia de Fátima Andrade Correia. Effects of anionic and cationic diets in prepartum on blood parameters on peripartum of Holstein cows with different dry periods, associated or not with estradiol injection. Lavras: UFLA, 2001.150p. (pHD Thesis in Animal Science)¹.

The effects of anionic and cationic diets, associated or not with estradiol injection were evaluated in 30 days and 60 days dry period on hematocrit (HEMA), plasma protein (PP), glucose (GLU), insulin (INS), non esterified fatty acids (NEFA) changing concentrations were evaluated in plasma of 40 Holstein cows, in peripartum. Cows were bled for 27 days before and after calving. This trial was undertaken at Dairy Research Unit of Florida University, in Gainesville. Forty cows were assigned randomly to diet in a 2x2+2 factorial arrangement for 21 days in prepartum. Anionic or cationic diets were fed to cows in prepartum. After calving a standard dairy diet was fed to all cows postcalving for more 21 days. The cows were under two different ranges of temperatures: up to 26^o C, that calved in Autumn (season 1) and over 26^o C, (extreme temperatures) and calved in Summer. Anionic diets associated or not with estradiol did not affect any blood parameters in any dry period. The average means of parameters evaluated were in recommended concentrations Neither higher (higher than 26^o C, season 2) or lower temperatures (lower than 26^o C) affected the plasma composition evaluated, except to PP, which decreased around the calving, associated with decreased feed intake. However, after calving, a remarkable increasing of PP concentrations, suggested that diets support the protein requirements in onset of lactation, when cows recovered feed intake. Both Plasma INS and GLU were reduced around calving, suggesting an intense utilization of glucose to produce lactose in onset of lactation, exceeding glucose synthesis and absorption. Although NEFA concentrations were in expected range, they stayed high after first week, even higher feed intakes were observed, but NEFA concentrations can not be considered as ketotic condition, supporting the positive effects of anionic diets on postpartum intake and consequently higher nutrient supplying to the cow.

¹ Comitê Orientador: Juan Ramon Olalquiaga Pérez (orientador); , H. Herbert Head - University of Florida José Camisão de Souza – UFLA e Joel Augusto Muniz - UFLA.

1 INTRODUÇÃO

O período de transição, definido como três semanas pré-parto e três semanas pós-parto, é marcado por mudanças no estado endócrino para acomodar o parto e a lactogênese

Estas mudanças que incluem redução de insulina plasmática e aumento do hormônio de crescimento, diminuição das concentrações de progesterona, que eram elevadas durante todo o período seco e estrógeno, que aumenta durante o período seco e diminui rapidamente dois dias antes da parição (Grummer, 1995) influenciam tanto o consumo, quanto a produção e os índices reprodutivos no pós-parto.

As concentrações hematológicas indicam o estado nutricional do animal e podem diagnosticar doenças metabólicas, além de proporcionarem a avaliação da adequabilidade da dieta utilizada (Rosenberg e Rarey, 1979).

As dietas aniônicas podem influenciar o consumo pré-parto, uma vez que podem disponibilizar maiores quantidades de Ca para o animal no início do pós-parto, evitando hipocalcemia e consequente evolução para febre do leite, o que evita redução no consumo, fazendo com que o animal o recupere mais rapidamente. Um dia antes do parto apresentou correlação significativa (0,54) com o consumo no 21^o dia pós-parto (Grummer, 1993). O maior consumo evita que o animal mobilize mais tecido adiposo, com consequente redução das concentrações de ácido graxo não esterificado no plasma.

A utilização de estradiol pode aumentar as concentrações de IGF-1, que por sua vez determinam a síntese de DNA na glândula mamária de ruminantes (Forsyth, 1996). Assim espera-se que a aplicação de estradiol em período seco de 30 dias produza efeito sobre a aceleração da proliferação epitelial mamária, sem prejuízo à produção de leite.

As concentrações de ácido graxo não esterificado revelam a adequabilidade dos teores energéticos da dieta e através de sua quantificação pode-se diagnosticar se o animal se encontra em cetose (Grummer, 1993), assim como as concentrações de glicose estão relacionadas a formação de lactose, que é o principal controlador osmótico do leite e que determina o volume de leite produzido (Coolier, 1995).

O presente experimento teve como objetivo avaliar o efeito de dietas aniônicas e catiônicas, com e sem uso de estradiol, sobre os parâmetros sanguíneos no pré e pós-parto, a fim de detectar alterações sanguíneas e avaliar o estado nutricional dos animais.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Hematócrito (HEMA)

A palavra hematócrito significa separar sangue. A centrifugação separa o sangue em três compartimentos distintos: a massa de eritrócitos no fundo, chamado volume de célula empacotado (VCE), uma camada de leucócitos de branco para cinza e trombócitos que ocorrem imediatamente acima das massas de célula vermelha, chamada de camada amarelada e o plasma sanguíneo (Rowlands et al., citado por Jain, 1986).

O estágio de lactação não apresenta efeito sobre o VCE. O número de eritrócitos aumenta ligeiramente, a medida em que a gestação avança (Conner et al., citados por Jain, 1986), entretanto no parto, pode haver mudança nas concentrações de constituintes sanguíneos, ocorrendo uma elevação, de acordo com o grau de estresse envolvido, que ficam evidenciadas dentro de 12 a 24 horas pós-parto e continua nos próximos dias imediatamente posteriores (Rosenberger e Rarey, 1979).

A temperatura pode influenciar os constituintes do sangue. Em altas temperaturas, a concentração dos constituintes do sangue tendem a diminuir. Em geral, a hemoglobina, o VCE e são menores no inverno, que na primavera e no verão (Rowlands et al., citados por Jain, 1986).

Os efeitos da lactação sobre os parâmetros sanguíneos são irregulares e variam de rebanho para rebanho. Em geral, vacas que não estão prenhes apresentam maiores valores de VCE que vacas lactantes (Noonan et al., 1978).

2.2 Glicose (Gli)

A utilização de glicose para energia representa uma alta demanda de energia para a vaca de leite. O aumento da gliconeogênese hepática e redução da utilização de glicose periférica são essenciais para atender esta demanda, especialmente em ruminantes, uma vez que a glicose dietética não escapa à fermentação ruminal. Assim, alguns mecanismos são ativados no início da lactação quando a vaca se encontra em balanço energético negativo, como aumento da gliconeogênese, redução de glicogênio no fígado e no músculo, a fim de liberar toda a glicose disponível para formação de lactose. A medida em que glicose entra na célula, parte dela é utilizada para síntese de lactose pelo aparato de Golgi, a qual determina a quantidade ou volume de leite produzido. A glicose não utilizada imediatamente é fosforilada, formando glicose 6-fosfato e pode ter três destinos metabólicos: formação de galactose, glicólise ou pentoses fosfato (Coollier, 1995).

As concentrações de glicose aumentam próximo a parição e depois retornam a concentrações normais próximas as do pré-parto . Grupos com maiores concentrações de glicose no pré-parto apresentaram maior taxa de fertilidade e não apresentaram uma redução tão grande no pós-parto. Concentrações de 62 ± 8 mg/dl de glicose são considerados normais para bovinos de leite. Elas aumentam antes da parição e depois se reduzem a um valor mínimo de 11 a 25 dias pós-parto(Kappler et al., 1984).

As concentrações de glicose podem ser influenciadas pelo número de dias pós-parto, número de lactação ou idade, estresse de temperatura e umidade e estação. Kappler et al. (1984) observaram que a glicose sanguínea foi relacionada à produção de leite durante o aumento e pico de produção, sendo que a sua concentração e produção de leite foram negativamente correlacionadas da primeira até a sexta semana pós-parto tanto na estação de parição no verão,

quanto no inverno. Entretanto, ocorreu uma redução acentuada na glicose sanguínea no grupo que pariu no verão, o que não ocorreu na mesma extensão no grupo que pariu na estação mais fria.

A utilização de glicose é alterada em vacas com acidose metabólica, uma vez que o uso eficiente de glicose pode ser prejudicado, se a atividade de insulina em sua célula alvo for reduzido. Bigner et al. (1996) induziram um estado de alcalose e acidose metabólica através da utilização de dietas catiônicas e aniônicas, respectivamente e observaram que as concentrações de glicose no plasma foram maiores, enquanto que as concentrações de insulina foram menores durante a acidose metabólica, o que sugere que a secreção de insulina é impedida, reduzindo a utilização de glicose pelos tecidos. Entretanto, o valor de DCAD (-405 meq/kg) utilizado foi extremamente alto, observando valores em torno de 66,55 mg/dl e 66,2 mg/dl para glicose e de 14,3 e 21,57 μ U/ml para insulina em dietas aniônicas e catiônicas, respectivamente.

2.3 Insulina (Ins)

A insulina é considerada um hormônio anabólico, uma vez que tem um efeito positivo na glicogênese e na lipogênese. Ela não só regula a deposição de mobilização do tecido adiposo, como também diminui a quantidade de glicose sanguínea e estimula a retirada e utilização de glicose pelo fígado, músculo e tecido adiposo, assim como inibe a gliconeogênese e glicogenólise, que são as duas principais fontes de glicose do sangue periférico (Grummer, 1995).

As concentrações de insulina plasmática diminuem e as do hormônio do crescimento aumentam a medida em que a vaca avança do final da gestação para o início da lactação, com picos agudos de ambos os hormônios na parição (Kunz et al., citado por Grummer, 1995). Em vacas leiteiras, após a parição e no início

da lactação, ocorre uma correlação altamente positiva entre concentração de energia e balanço energético (Lucy et al., 1993)

A insulina tem importantes funções tanto no período pré-parto, quanto na lactação, uma vez que ela está altamente correlacionada ao crescimento da glândula mamária, atuando na proliferação do epitélio secretório, através do aumento do conteúdo do DNA dos tecidos, e conseqüente aumento, na proliferação do epitélio secretório (Zwierzchowski, 1999), quanto na atividade mamogênica. Além disso, ela estimula a síntese protéica do leite diretamente ou através da ação da IGF capacitando a glândula mamária a suportar o aumento das produções de proteína do leite, por aumentar a eficiência de extração de aminoácidos, fluxo sanguíneo mamário e consumo de glicose (McGuire et al., 1995).

Para vacas alimentadas com dieta aniônica, mas com teores ácido o suficiente para provocar acidose, ocorre inibição de insulina e o comprometimento do consumo de glicose pelos tecidos, aumentando sua excreção pela urina.

2.4 Proteínas Plasmáticas (PPL)

As proteínas plasmáticas estão envolvidas na nutrição , manutenção da pressão osmótica, tamponização, transporte de pequenos íons e moléculas, homeostase e resistência à infecções. As proteínas plasmáticas incluem as imunoglobulinas, que conferem resistência contra doença aos neonatos, as albuminas, proteínas mais abundantes no plasma, que regulam a pressão e a concentração osmótica do sangue, o fibrinogênio, relacionado principalmente à homeostase, entre outras (Rosenberger e Rarey, 1979).

O nível de proteínas no sangue aumenta dois meses antes do parto, como conseqüência do aumento dos níveis de β_2 - e γ_1 -globulinas. Cerca de 4 semanas

antes do parto, as proteínas alcançam um máximo e depois começaram a diminuir ao mínimo no parto, o qual coincide com o movimento das proteínas do sangue para o colostro (Rowland et al., citados por Jain, 1986). As concentrações de imunoglobulina da secreção mamária diminuem a medida em que a produção muda de colostro para leite.

A perda de água devido a desidratação também pode elevar as proteínas totais do plasma pela concentração em um volume reduzido (Carrol et al., citada por Rosenberg e Rarey, 1979).

2.5 Ácidos graxos não esterificados (AGNE)

Durante o final da gestação e em torno da parição, o tecido adiposo torna-se muito susceptível às ações dos hormônios lipolíticos, como as catecolaminas epinefrina e norepinefrina (McNamara, 1995). Os ácidos graxos liberados do tecido adiposo circulam como ácidos graxos não esterificados (AGNE), que são a principal fonte de energia para a vaca durante este período.

Os ácidos graxos não esterificados (AGNE) aumentam aproximadamente duas vezes entre o 17^o dia e o 2^o dia pré-parto e sua concentração aumenta drasticamente até a parição. Desse total, não se sabe quanto vem da mudanças do estado endócrino e quanto é devido à restrição energética, resultante da baixa ingestão de MS, uma vez que Bertics, ao forçar o consumo alimentar, durante o período de transição diminuiu as concentrações de AGNE, mas não as eliminou por completo (Grummer, 1993).

O fígado das vacas extrai uma quantidade de AGNE essencialmente constante que flui através dele. O fígado pode utilizar o AGNE para oxidá-lo completamente para dióxido de carbono, fornecendo energia para o fígado, oxidá-lo parcialmente e produzir corpos cetônicos que servem como substrato para outros tecidos, esterificá-los para formar triglicerídeos (Drackley, 1998).

A redução do consumo alimentar e do balanço energético antes do parto aumenta as concentrações de AGNE e a concentração de triglicerídeos no fígado à parição. A cetose faz parte do metabolismo do animal energético da vaca, e as cetonas são importantes como fonte energética para os tecidos. Na ausência de glicose (Gaines, 1998), entretanto, a ocorrência de maiores concentrações de AGNE no fígado antes da parição está associada a maior incidência de cetoses, deslocamento de abomaso, mastite e retenção de placenta (Moore et al., 2000).

O uso de dietas aniônicas (-150 meq/kg) evitou a queda de consumo tão acentuada quanto em dietas com DCAD de 0 meq/kg no pré-parto, sendo que o balanço energético não foi afetado pela DCAD. À parição, as concentrações de triglicerídeos no fígado foram maiores em vacas que em bezerros, entretanto, em bezerros, a dieta aniônica abaixou o consumo, e contribuiu para aumentar a concentração de triglicerídeos à parição. Em vacas multiparas, a dieta aniônica não apresentou efeito sobre o consumo, balanço energético ou peso corporal e foi efetiva no controle da febre do leite (Moore et al., 2000). Joyce, Sanchez e Goff (1997) não observaram, utilizando o mesmo DCAD, nenhum caso de cetose subclínica nos animais utilizados no experimento.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais e dietas experimentais

Foram utilizadas 40 vacas holandesas multíparas, prenhes, com escore corporal entre 3,25 a 3,75, selecionadas do rebanho da Unidade de Pesquisa de Bovino Leiteiro (Dairy Research Unit – DRU) da Universidade da Flórida. A medida que os animais atingiam o período desejado para secagem (30 ou 60 dias antes do parto), eram retirados do grupo de produção, tratados contra endo e ectoparasitas, pesados. Após avaliado o escore de condição corporal (1-5, magro a obeso, Edmonson et al., 1989), se juntavam ao grupo seco (no caso de período seco de 60 dias) em um piquete específico, ou (no período de secagem de 30 dias) eram diretamente alojados em um sistema de free-stall com solário, onde permaneciam por todo o período experimental. Aos 30 dias anteriores à data prevista de parição, os animais secos com 60 dias, se juntavam aos animais no free-stall, onde recebiam aleatoriamente um dos 6 tratamentos experimentais, constituídos da seguinte maneira:

1. Dieta aniônica, associada ao período seco de 30 dias;
2. Dieta catiônica, associada ao período seco de 30 dias;
3. Dieta aniônica, associada ao período seco de 30 dias e aplicação de estradiol cipionato (ECP);
4. Dieta catiônica, associada ao período seco de 30 dias e aplicação de estradiol cipionato (ECP);
5. Dieta aniônica, associada ao período seco de 60 dias;
6. Dieta catiônica, associada ao período seco de 60 dias.

As dietas aniônicas e catiônicas constituíram-se de silagem de milho, feno de alfafa, caroço de algodão, polpa cítrica, grãos de destilados e uma mistura de grãos, apresentando 51% de MS, 16% de PB, 64% de NDT, 1,6% de Ell, 37% de CNE, 25,36 e 25,93 de FDA e 37,09 e 37,86% de FDN e uma diferença de cátion-ânions na dieta (DCAD) de -136 e +73 meq/kg, respectivamente, para dietas aniônicas e catiônicas. Para obtenção das dietas aniônicas, utilizou-se adição de cloreto de amônio. As rações estão descritas no capítulo 2.

O peso inicial das vacas variou entre 519 e 833 kg e o escore de condição corporal entre 2,5 a 4,75, embora inicialmente, tenham sido selecionadas vacas de ECC entre 3,25 a 3,75, entretanto, fatores de manejo e arraçamento modificaram os referidos escores. Todas as vacas entraram no período experimental entre 23/06/1999 a 28/10/1999 e pariram entre 23/08 a 08/12. Cada vaca ficou submetida a uma temperatura média entre 17° C e 29° F.

Após a parição, os animais eram novamente pesados, feita a avaliação do ECC e passavam ao grupo de lactação, onde recebiam a dieta de lactação, baseada em feno de alfafa, silagem de milho e sorgo, polpa cítrica, grãos de destilado, apresentando a seguinte composição bromatológica (em %): 61,69 de MS, 18% de PB, 71% de NDT, 0,61 de Ell, 32,77 de FDN e 22,15 de FDA, com um DCAD de +2,44 meq/kg. A composição percentual e bromatológica encontra-se no Capítulo 2.

3.2 Coleta de sangue, manuseio e estocagem

As amostras de sangue foram coletadas da veia caudal de todas as vacas, começando no 27^o dia que antecedeu o parto, três vezes por semana, iniciando-se sempre às 7:30 da manhã, antes que elas fossem ordenhadas e alimentadas, até o 27^o dia pós-parto

Foram utilizadas agulhas de 2,54 cm para Vacutainer e tubos contendo heparina de sódio (10 x 100 mm, Becton-Dickinson, Fairlawn, NJ). As amostras de sangue foram imediatamente colocadas em gelo após a coleta e processado no máximo 2 horas, sendo então centrifugadas em microhematócritos para determinação de hematócrito e proteína plasmática. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 3000 RPM a 5^o C por 30 minutos em uma centrífuga GR 412 (Jouan, Winchester, VA) para separação do plasma. O plasma e o soro foram acondicionados separadamente em tubos plásticos de 5 ml, devidamente etiquetados, tampados e congelados à -20^oC, até serem analisados. Analisou-se insulina (INS), glicose (GLI), ácido graxo não esterificado (AGNE).

3.3 Determinação de hematócrito e proteína plasmática

Para cada amostra, tubos microcapilares para hematócrito foram enchidos com sangue e centrifugados por 2 minutos a 2000 RPM. Tanto hematócrito (em % de células vermelhas), quanto proteína plasmática (g/dl) foram determinados utilizando-se estes tubos. Os tubos capilares foram colocados em leitor internacional de microcapilares IEC (disco graduado), lendo-se as concentrações de hematócrito. Em seguida, uma porção de plasma foi colocada sobre um refratômetro para determinação da proteína plasmática.

3.4 Determinação de insulina

3.4.1 Obtenção do radioisótopo diluído

As concentrações de insulina foram determinadas através do procedimento de radioimunoensaio de anticorpo duplo. Todas as amostras individuais foram analisadas em duplicata. Para tal, foi feita adição de iodo e separação protéica.

Insulina bovina (100-300 μ g, Sigma Immunochemicals, St. Louis, MO) foi pesada e misturada com uma quantidade igual de 5 mM de HCl, após o qual, misturou-se a mesma quantidade de tampão borato 0,01 M (pH 8,0) à solução, para dar uma concentração final de 0,5 μ g de insulina/ μ l de tampão, 10 μ l desta solução foi congelada em tubos de microcentrifugação.

A coluna usada para separar a proteína iodinizada do iodo livre foi preparada cortando-se e destacando-se a boca de um de pipeta de vidro de 10 ml. Um pequeno pedaço de lã de vidro foi colocado na coluna antes de se adicionar uma mistura de Sephadex G-50 com disperso em 0,01 M de tampão fosfato), até que o Sephadex enchesse a coluna. Subsequentemente, a coluna foi lavada com 2 ml de tampão fosfato 0,5 M. O tampão fosfato ficou retido na porção retida de Sephadex até ser usado para separação.

Imediatamente, após a adição de iodo, 3 mg de cloramina-T e 5 mg de metabisulfito de Na foram pesados em tubos individuais e cada tubo foi dissolvido em 1 ml de tampão fosfato 0,5 M. Depois, 10 μ l de I¹²⁵, foram transferidos para um tubo de borosilicato (12 x 75 mm), contendo 10 μ l de insulina e então, 10 μ l de tampão fosfato 0,5 M foram adicionados. Após misturados, foram adicionados 10 μ l de cloramina-T ao tubo de reação e os conteúdos foram misturados por 20 segundos, após o qual se adicionou 10 μ l de metabisulfito de Na a fim de parar a reação. Sequencialmente, a solução

contendo INS-I¹²⁵ foi transferida para o topo da coluna de Sephadex, o tubo de reação foi lavado com 50 µl de 0,01 M de tampão fosfato e este extrato foi transferido para o topo da coluna, permitindo fluir o sephadex estocado.

Tubos de borosilicato, numerados de 1 a 40, que continham 500 µl de borato fosfato 0,5 M foram usados para coletar 20 frações, usando um coletor de fração. As frações coletadas foram misturadas e então 10 µl de cada fração eluída foram transferidas para um segundo conjunto de tubos (12 x 75 mm) para identificar os picos radioativos usando um Contador Analítico Gama. Os tubos do primeiro pico, correspondente a I¹²⁵, ligada a insulina, foram armazenados a temperatura de 4°C até serem utilizados nos ensaios.

3.4.2 Ensaio

Foi utilizado o procedimento de radioimunoensaio de duplo anticorpo, como descrito por Malven et al. (1978). Pesou-se insulina altamente purificada (100 µg), dissolveu-se em 30 mM HCl (pH= 2,5). A insulina foi alíquotada em tubos de 1 ml e congelados até serem usados. O estoque de insulina foi diluído em tampão borato/BSA (0,133 M borato, 0,01% de mertiolate e 0,5% de BSA, pH=8,0) para produzir uma concentração final de 100 ng/ml para preparação dos padrões. Onze diferentes padrões contendo 0,2; 0,3; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0 ng/ml foram preparados e congelados em alíquotas de 5 ml. Para o primeiro anticorpo, foi utilizado insulina antibovina de porquinho da Índia (Sigma Chemical CO., St. Louis, MO) dissolvida em tampão borato/BSA (1:20.000). O segundo anticorpo (soro de carneiro) foi diluído em 1:4 em tampão borato/EDTA (1,86 g de EDTA em 100 ml de borato tampão).

As quantidades utilizadas nos tubos de ensaio estão na tabela . As amostras de plasma (150 µl) foram analisadas em duplicatas com 150 µl de

tampão borato (0,5% de BSA) em tubos de borosilicato 12 x 75 mm e foram adicionados 100 µl do primeiro anticorpo (exceto nos tubos para contagem total, NSB-B e NSB-P). Doze horas mais tarde, 100 µl de insulina com adição de iodo foram pipetadas em todos os tubos. Depois de 24 horas de incubação a 4^o C (contando da adição do primeiro anticorpo), 100 µl do segundo anticorpo de porquinho da Índia diluído foram adicionados a todos os tubos do ensaio, exceto aos tubos de contagem total (branco). Os conteúdos dos tubos foram misturados e permaneceram em descanso por 10 minutos.

Após a incubação, 750 µl de 15% de polietileno glicol (PEG) em tampão borato foram adicionados a todos os tubos, exceto os brancos e foram misturados em Vortex por 1 min. Os tubos foram então centrifugados a 3000 RPM a 4^oC, decantados e secos. A radioatividade ligada aos tubos secos foi medida em um autocontador de radiação gama (modelo b-5005). Os resultados finais foram calculados usando-se os dados processados do “spline” do radioimunoensaio para um ensaio codificado para corrigir quaisquer diferenças em ligantes não específicos para plasma e tampão (Tabela 12).

TABELA 9. Disposição dos tubos de ensaio para insulina.

Tubos*	Amostras	Tampão**	1 ^o Anticorpo	Insulina I ¹²⁵	Plasma
TCT	-	-	-	100	-
LNE-B	-	350	-	100	-
LNS-P	-	200	-	100	150
Zero	-	250	100	100	-
Standards	100	15	100	100	-
Amostras	150	100	100	100	-

*TCT= Tubo de contagem de atividade total, LNE-B=ligante não específico para borato

LNE-P=ligante não específico para plasma, Zero=referência, **borato/0,5%/tampão BSA, volume em µl

3.5 Determinação de ácidos graxos não esterificados

3.5.1 Ensaio

O princípio do ensaio se baseia, no fato de que na presença de ATP, a coenzima A e acil-CoA sintetase, formam acil-CoA e subprodutos de AMP e pirofosfato. Assim, o acil-CoA produzido é oxidado pela acil-CoA oxidase, a qual produz peróxido de hidrogênio e 2,3- trans-enoilCoA. A peroxidase age no peróxido de hidrogênio, na presença de 3-metil-N-etil-N-(β-hidroxi-*etil*)-anilina e 4-aminoantipirina para formar o produto de reação final, uma quinona roxa (γ_{\max} , 550 nm).

3.5.2 Reagentes

Fornecidos pelo kit de NEFA-C, da Wako Pure Chemical Industries, Ltda, Dallas, Texas, incluem: Reagente Colorimétrico A, reagente Colorimétrico b e seus respectivos diluentes e os padrões de AGNE. Deve-se preparar a parte, fosfato tampão (pH 6,9, 50 mM) e solução salina 0,9%.

3.5.3 Metodologia

O reagente A foi diluído em 10 ml de diluente para reagente A, invertido até dissolução, misturado com 13,3 ml de 50mM de fosfato tampão e estocado a 4^o C. O reagente B foi diluído em 20 ml de diluente do reagente B, invertido até dissolução, misturado com 33,3 ml de 50 mM de fosfato tampão e estocado a 4^o C. As soluções padrões (125, 250, 500 e 1000 $\mu\text{Eq/l}$) foram então preparadas, diluindo-se com 50 mM de solução salina e estocadas a -20^o C.

3.5.4 Procedimentos

Foram utilizados pratos de Elisa, com microorifícios, nos quais, utilizando-se pipeta manual de 10µl, transferiu-se 2,5 µl do padrão, do branco ou plasma para os microorifícios. Usando-se uma pipeta de repetição Eppendorf ,m adicionou-se 50 µl do reagente A, imediatamente após, o prato foi colocado em estufa a 25⁰C por 30 minutos. Retirado, adicionou-se 100 µl do reagente B, colocando-o novamente em estufa, a 25⁰C por 30 minutos, retirou-se, permanecendo à temperatura ambiente por 5 minutos. A absorbância do produto da reação final foi medida em espectrofotômetro a 550 nm.

3.6 Método de determinação de glicose

3.6.1 Ensaio

O ensaio se baseia no princípio de que a glicose, misturada a água e oxigênio, na presença de glicose oxidase, forma ácido glucônico e peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Este peróxido de hidrogênio, adicionado de o-dianisidina (incolor), na presença de peroxidase, forma um composto de cor marrom, a o-dianisidina oxidada. A intensidade da cor marrom medida a 425-475 nm é proporcional à concentração de glicose original.

3.6.2 Reagentes

Fornecidos pelo kit Sigma Diagnostics (PO Box 14508), St.Louis, MO, incluem: cápsulas de enzimas PGO, hidrocloreto de o-dianisidina, solução de glicose padrão, solução de hidróxido de Ba e solução de sulfato de Zn.

3.6.3 Procedimentos

Foram etiquetadas tubos para branco, standard, teste 1 e teste 2. A cada tubo adicionou-se 1,8 ml de água destilada, para o branco, adicionou-se 2 ml de água e para o standard, foram adicionados 200 μ l de solução de glicose padrão do tubo. Para os testes, foram adicionados 200 μ l de plasma. Em todos os tubos, adicionou-se 1 ml de solução de hidróxido de bário e 1 ml de solução de sulfato de Zn, misturando-se bem. Levou-se à centrifuga por 15 minutos, 2000 rpm. Após centrifugado, obteve-se o sobrenadante. Foram preparados, os seguintes padrões: 25, 50, 100, 150 e 200, diluindo-se a solução padrão em água, nas respectivas diluições.

Foram transferidos 25 μ l de sobrenadante para pratos de Elisa com microorifícios, e em seguida, adicionou-se 250 μ l de reagente de enzima combinada, incubando-se por 45 minutos, à temperatura ambiente. A absorbância do produto da reação final foi medida em espectrofotômetro a 425-475 nm.

3.7 Delineamento estatístico

As vacas foram distribuídas aleatoriamente aos tratamentos, em delineamento inteiramente ao acaso, em um esquema fatorial $(2 \times 2) + 2$, constituído por 2 períodos secos (30 e 60 dias), 2 tipos de dieta (aniônica e catiônica) e dois tratamentos adicionais (uso ou não de estradiol somente para o período seco de 30 dias), perfazendo um total de 6 dietas.

Foram utilizados 40 animais, em um modelo desbalanceado, sendo os tratamentos constituídos de 6, 6, 6, 7, 8 e 7 vacas, para os tratamentos 1, 2, 3, 4, 5 e 6, respectivamente. Cada vaca constitui uma repetição, segundo o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijklm} = \mu + t_i + p_j + tp_{ij} + e_{ijk} + d_l + td_{il} + pd_{jl} + tpd_{ijl} + e_{ijkl}$$

onde:

Y_{ijklm} = variável dependente;

μ = média geral

t_i = efeito dos tratamentos i ($i=1,2,3,4,5,6$);

p_j = efeito das estações de parição j ($j=1,2$);

tp_{ij} = efeito da interação entre os tratamentos i e as estações de parição j ;

e_{ijk} = erro experimental na subparcela a , associado ao efeito de vaca k no tratamento i e estação de parição j , que por hipótese; apresenta distribuição normal e independente, média 0 e variância σ_a^2

d_l = efeito dos dias de coleta de sangue l em relação à parição l ($l=1, \dots, 24$);

td_{il} = efeito da interação entre os tratamentos i e os dias de coleta d ;

pd_{jl} = efeito da interação entre estação de parição j e os dias de coleta l ;

tpd_{ijl} = efeito da interação entre os tratamentos i , a estação de parição j e os dias de coleta l ;

e_{ijkl} = erro residual que por hipótese apresenta distribuição normal e independente, média 0 e variância σ^2

As coletas de sangue foram tomadas no mesmo animal, constituindo portanto, um esquema fatorial, com medidas repetidas no tempo.

3.8 Análises estatísticas

Foram analisados hematócrito (HEMA) , proteína plasmática (PP), insulina (INS), ácido graxo não esterificado (AGNE) e glicose (GLI) no pré e no pós-parto. As análises estatísticas foram efetuadas, utilizando-se os procedimentos dos modelos lineares gerais (PROC GLM) e REG do programa computacional SAS (1996).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram observados efeitos de dietas ($P>0,05$), (Tabela 9A) sobre as variáveis sanguíneas estudadas.

Da mesma maneira, não foram observados efeitos de estação sobre a produção de hematócritos, o que discorda da observação de Rosenberger e Rarey (1979) de que temperaturas maiores que 27° tendem a provocar aumentos nas concentrações de hematócritos (Tabela 11 A).

Entretanto, observou-se efeito significativo de dias de coleta em relação ao parto, sobre todos as variáveis ($P<0,01$) (Tabela 12A). No período pré-parto, observou-se discretas alterações nos níveis de hematócritos (Figura 5, Tabela 10A), o que está de acordo com as observações de Conner et al., citada por Jain (1986), de que o estágio de gestação não tem efeito marcante sobre as concentrações de hematócritos, que diminuem a partir do parto.

A perda de líquido durante o parto é esperada e pode levar a uma hemoconcentração. Embora a redução de hematócritos tenha persistido por mais três semanas pós-parto, estes se mantiveram dentro dos padrões observados para bovinos (24 a 48%), por Ferreira, Viana e Magalhães (1977).

Segundo as observações de Rowlands et al., citados por Jain (1986), os valores de hematócrito são reduzidos durante a lactação.

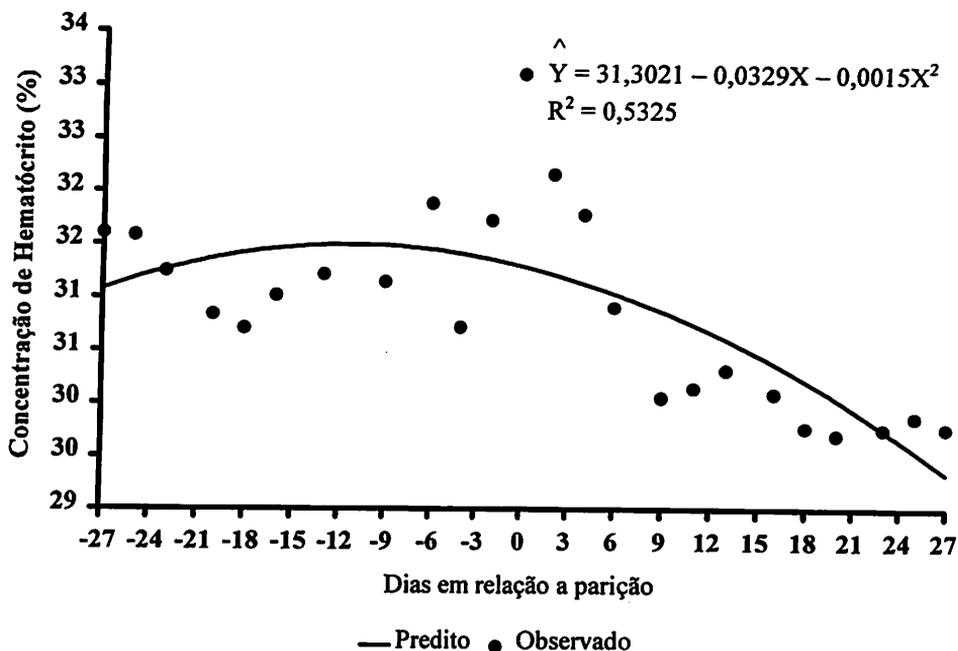


FIGURA 5. Concentração de hematócrito no plasma, em relação aos dias de parição.

FIGURE 5. Hematocrits levels in plasma, according to days of calving.

A interação entre dias no periparto e estação também foi significativa ($P < 0,05$) (Tabela 9A). Como podemos observar na Tabela 10A, ocorre redução nas concentrações de hematócritos na estação 2, o que pode indicar uma desidratação em temperaturas mais quentes.

As concentrações médias de glicose não foram influenciadas pelas dietas ($P > 0,05$), (Tabela 9A), diferentemente dos resultados de Bigner et al. (1996), os quais observaram maiores concentrações de glicose para vacas alimentadas com dietas aniônicas. Entretanto, ocorreu um efeito cúbico dos dias em relação ao

parto (Figura 6) sobre as concentrações médias de glicose no plasma ($P < 0,01$) sendo que as concentrações mais baixas ocorreram em torno do 6^o ao 23^o dia de lactação, no mesmo período observado por Kappler et al., 1984), os quais observaram as menores concentrações de glicose do 11^o ao 25^o dia. Entretanto, diferentemente dos resultados encontrados anteriormente (Vasquez-Anon et al. 1994; Kappler et al., 1984), houve uma queda das concentrações de glicose em torno da parição (Tabela 14 A).

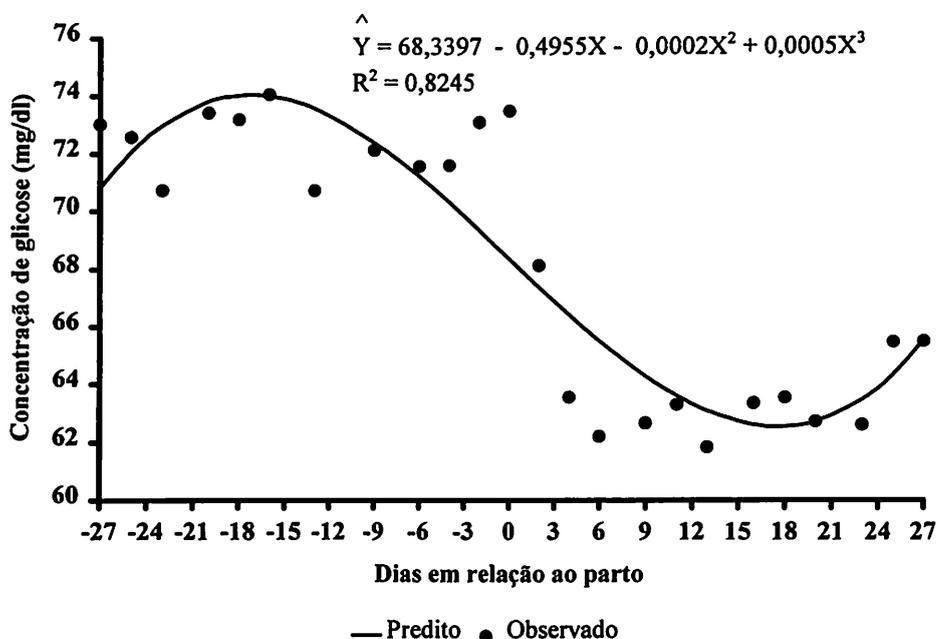


FIGURA 6. Concentrações médias de glicose no plasma, em relação aos dias de parição.

FIGURE 6. Average of glucose levels in plasma, according to days of calving.

Foi observado o efeito das estações sobre as concentrações médias de glicose no plasma ($P < 0,01$) (Tabela 16A), assim como ocorreu no trabalho

realizado por Kappler et al., 1984), houve uma queda acentuada de glicose para os animais que pariram no verão (71,49 x 64,69 mg/dl).

As concentrações encontradas neste trabalho, média de 67,88 mg/dl , são consideradas normais para bovinos de leite, 45 a 75 mg/dl (Kappler et al., 1984)

Também foi observado efeito cúbico dos dias sobre as concentrações de insulina ($P>0,05$) (Tabela 17A) (Figura 7). Os resultados concordam com os de Garcia (1998) e Chew et al. (1984), de que concentrações de insulina diminuem em torno da parição, o que permitiria aumento da produção de glicose via gliconeogênese, visto que a insulina inibe a gliconeogênese, podendo ocorrer o uso desta pelos tecidos mamários, com conseqüente inibição da insulina. Além disso, McGuire et al. (1995), observaram que o transportador de glicose sensível à insulina não está presente na glândula mamária, portanto a insulina não teria efeito sobre a retirada de glicose da glândula mamária, o que dá prioridade ao seu uso, permitindo que as taxas de retirada de glicose e síntese de lactose permanecessem relativamente constantes durante todo o dia.

A proteína plasmática sofreu redução quadrática ($P<0,05$), (Tabela 22A), a medida em que se avançou para o final da gestação, voltando a aumentar em torno do terceiro dia (Tabela 21 A), o que está de acordo com as observações de Rosenberger e Rarey (1979) de que os níveis das globulinas β_2 e γ_1 sofrem um aumento máximo em torno da parição, entretanto, estes valores, começam a diminuir para o mínimo, em torno da parição (Figura 8), indicando uma retirada das proteínas plasmáticas para formação de colostro. No presente trabalho, as concentrações de proteína plasmática ficaram dentro dos padrões de normalidade de proteína sérica total, (6-8 g/100 ml), até mesmo em torno da parição (6,15 g/100 ml) (Tabela 21 A).

O aumento crescente das concentrações protéicas imediatamente após o parto, indica que as dietas, de uma maneira geral, foram eficientes em suprir as exigências protéicas dos animais no início da lactação.

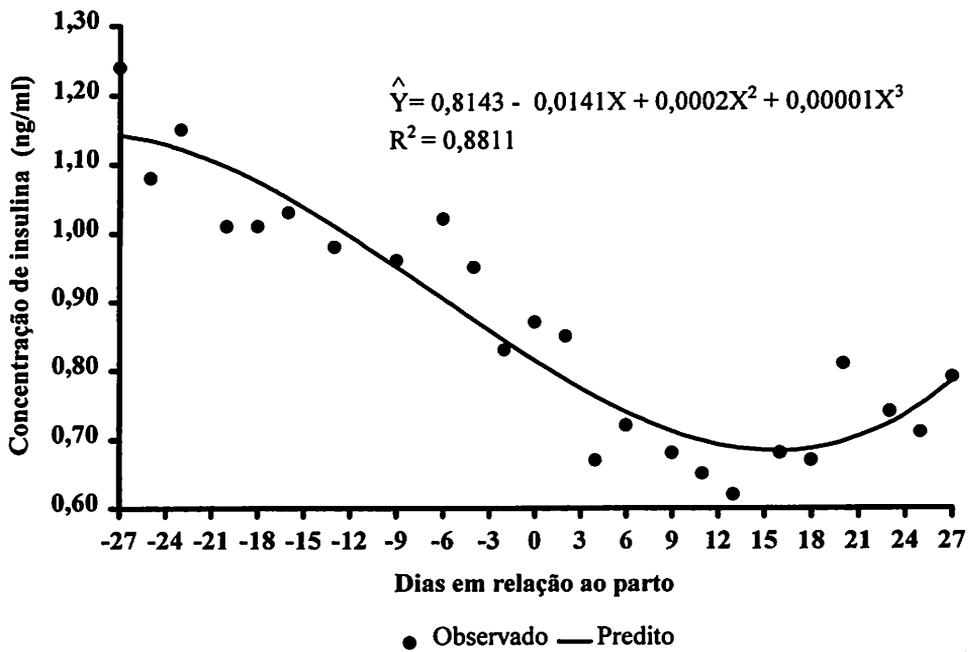


FIGURA 7. Concentrações médias de insulina no plasma, em relação aos dias de parição.

FIGURE 7 Average of insulin levels in plasma, according to days of calving.

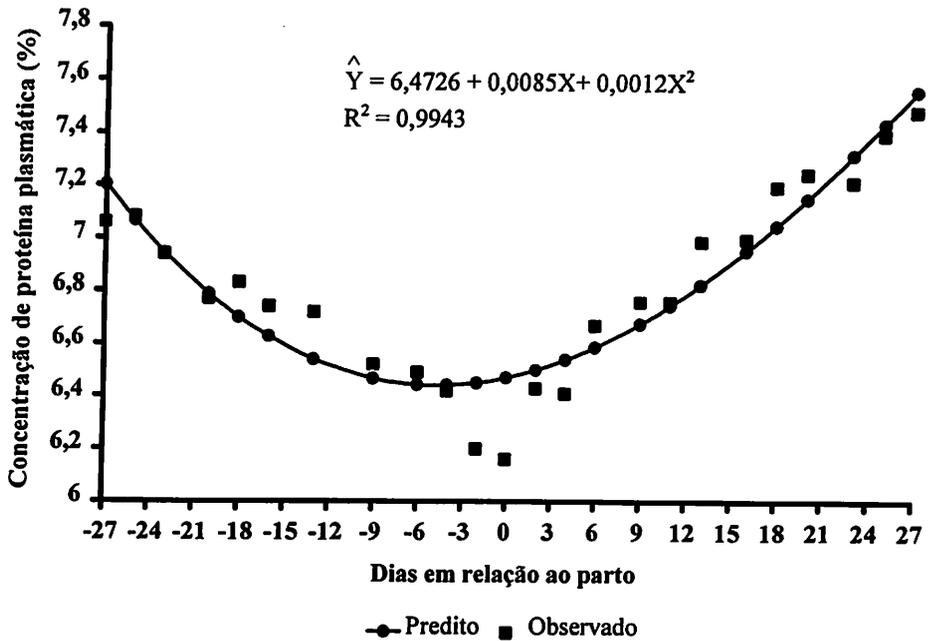


FIGURA 8. Concentrações médias de proteína no plasma, em relação aos dias do parto.

FIGURE 8. Average of protein in plasma, according to days of calving.

Foram observados efeitos cúbicos de dias sobre a média de ácidos graxos não esterificados (AGNE) ($P < 0,01$), (Tabela 24 A), (Figura 9), com aumentos de suas concentrações, a medida em que os animais se aproximaram da parição. Este rápido aumento de AGNE em torno da parição pode ser explicado pelo estresse da parição. Também deve ser considerado o consumo energético dispendido no processo da expulsão do feto e do parto de uma maneira geral.

A Figura 10 ilustra que no pré-parto ocorreu uma relação inversa entre consumo e produção de AGNE. Entretanto, as concentrações de AGNE continuaram a crescer (Figura 10), nos primeiros dias após a parição (dias 2,4 e

6), o que pode ser explicado pelo fato de que nos primeiros dias após a parição, as vacas não consomem as quantidades desejadas e o consumo pode ser muito baixo para atender as exigências fisiológicas (Burhans e Bell, 1998). Embora, neste trabalho, as vacas tenham apresentado consumo considerado adequados pelo NRC (2001), (Capítulo 1), este parece não ter sido suficiente para suprir a alta demanda energética, levando à maior mobilização do tecido adiposo.

Após o parto, todas as médias observadas foram superiores às do pré-parto, o que está de acordo com a observação de Grummer (1995), de que embora, as concentrações de AGNE diminuem após a parição, ainda permanecem mais altas do que as observadas no pré-parto. Conforme relatado por Drackley (1992), taxas extremas de mobilização de lipídeos leva à maior retirada de AGNE pelo fígado, com conseqüente acúmulo de triglicérides e redução de glicogênio no fígado, aumentando a susceptibilidade à cetose. Entretanto, as concentrações observadas neste ensaio, se encontrem dentro dos níveis considerados como mobilização normal (Dyk, citado por Grummer, 1995), indicando que o aumento de corpos cetônicos não se constitui em condição patológica. A presença de cetonas podem ser consideradas parte do normal do metabolismo, sendo importantes no metabolismo energético do animal, principalmente, por fornecer energia na ausência de glicose, podendo ser utilizada na formação de até 40% da gordura do leite (Bell, 1995).

Através da figura 12, podemos observar que a partir do 18^o dia, a relação entre consumo e exigência energética tende a ser reestabelecida, produzindo menor mobilização de tecido adiposo e conseqüentemente, redução da quantidade de AGNE circulante.

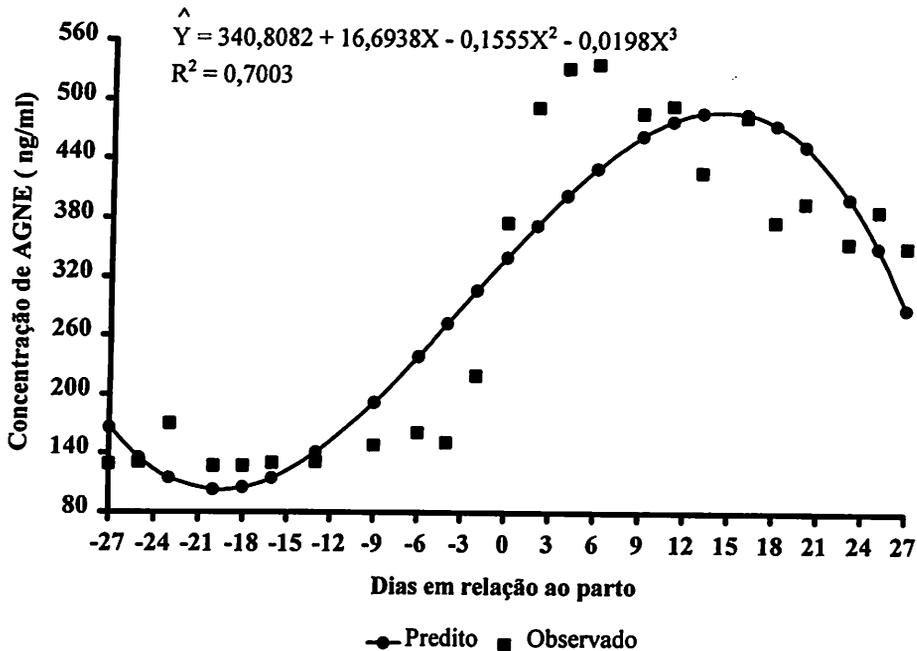


FIGURA 9. Concentrações médias de ácidos graxos não esterificados no plasma, em relação aos dias do parto

FIGURE 9. Average of non esterified fatty acids levels in plasma, according to days of calving

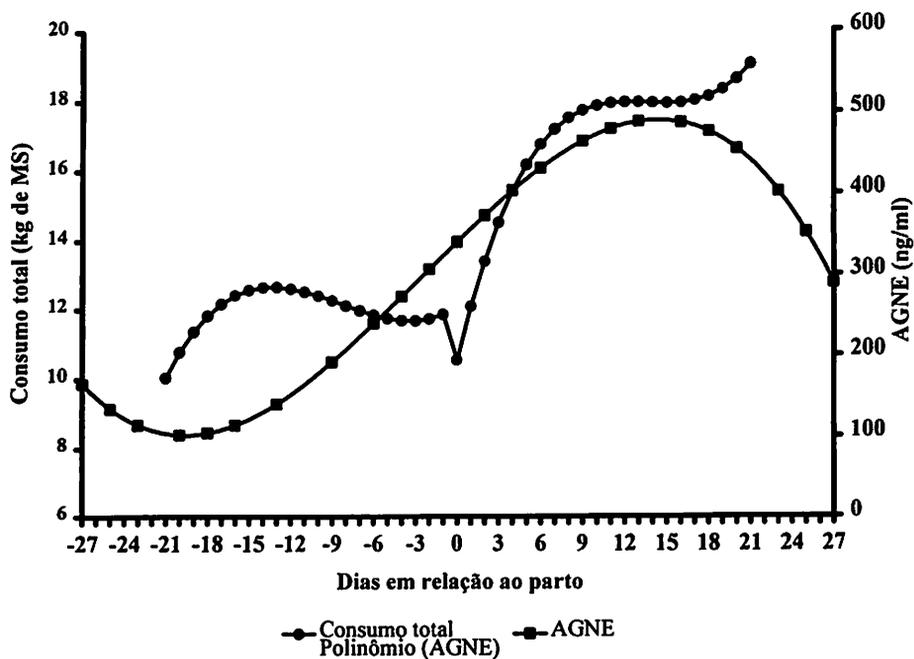


FIGURA 10 Relação entre consumo total (kg de MS) e ácido graxo não esterificado (mg/ml)

FIGURE 10 Relation between total intake (kg of DM) e non esterified acid (NEFA) (mg/ml)

5 CONCLUSÕES

O uso de dietas aniônicas associadas ou não ao estradiol, não produziu alterações nos parâmetros sanguíneos estudados em nenhum dos dois períodos secos. As concentrações de todos os parâmetros sanguíneos estudados ficaram dentro dos níveis recomendados.

Temperaturas mais elevadas não afetaram as variáveis analisadas, com exceção da proteína, que sofreu uma redução acentuada em torno da parição. Entretanto, logo após a parição, observou-se um aumento acentuado, indicando que as dietas supriram as exigências protéicas no início da lactação, assim que o consumo foi reestabelecido.

As concentrações de insulina e glicose plasmática foram reduzidas em torno da parição, o que sugere uma intensa utilização da glicose na formação de lactose, excedendo sua absorção e síntese.

As concentrações de AGNE observadas neste ensaio foram consideradas normais e embora continuassem altas após a primeira semana de lactação, mesmo com maiores consumos, não foram indicativas de cetose, sugerindo a efetividade das dietas aniônicas na recuperação do consumo pós-parto e consequentemente, do maior aporte de nutrientes.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BELL, A.W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, n.9, p.2804-2819, Sept. 1995.
- BIGNER, D.R., GOFF, J.P.; FAUST, M.A.; BURTON, J.L.; TYLER, H.D.; HORST, R.L. Acidosis effects on insulin response during glucose tolerance tests in Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.79, n.12, p.2182-2188, Dec. 1996
- BURHANS, W.S.; BELL, A.W. Feeding the transition cow. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 60, 1998, Rochester. **Proceedings...** Rochester, 1998. p.247-258.
- CHEW, B.P.; MURDOCK, F.R.; RILEY, R.E.; HILLERS, J.K. Influence of prepartum dietary crude protein on growth hormone, insulin, reproduction, and lactation of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.67, n.2, p.270-275, Feb. 1984.
- COLLIER, R.J. Nutritional, metabolic, and environmental aspects of lactation In: LARSON, B.L. **Lactation**. Iowa: Iowa State University Press, 1995. 276p.
- DRACKLEY, J.K. Nutritional Management of dairy cows during the transition period. In: FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 1998, Gainesville. **Proceedings...** Gainesville: University Press, 1998. p.38-56.
- DRACKLEY, J.K.; BEITZ, D.C.; RICHARD, M.J.; YOUNG, J.W. Metabolic changes in dairy cows with ketonemia in response to feed restriction in dietary 1,3-butanediol. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, n.6, p.1622-1634, June 1992.
- EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D.; FARVER, T.; WEBSTER, E.G. A body condition score chart for Holstein Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.72, n.1, p.68-78, Jan. 1989

- FERREIRA NETO, B.; VIANA, J.M.; MAGALHÃES, E.S. Patologia clínica veterinária. Belo Horizonte: Rabelo Brasil, 1977. 279p.**
- FORSYTH, I.A. The insulin -like growth factor and epidermal growth factor families in mammary cell growth in ruminants: action and interaction with hormones. Journal of Dairy Science, Champaign, v.79, n.6, p.1085-1096, June 1996.**
- GAINES, J.D. Metabolic diseases of the puerperal period. Bovine Theriogenology. 1998.**
- GARCIA, A.G. Use of bST in management of growing heifers and transition cows to improve growth rates and milk production. Florida: University of Florida, 1998. (PhD. Dissertation.)**
- GRUMMER, R.R. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. Journal of Dairy Science, Champaign, v.76, n.12, p.3882-3890, Dec. 1993.**
- GRUMMER, R.R.; HOFFMAN, P.C.; LUCK, M.L.; BERTICS, S.J. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. Journal of Animal Science, Champaign, v.73, n.9, p.2820-2833, Sept. 1995.**
- JAIN, N.C. Schalm's veterinary hematology. 4.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 1221p.**
- JOYCE, P.W.; SANCHEZ, W.K.; GOFF, J.P. Effect of anionic salts in prepartum diets based on alfalfa. Journal of Dairy Science, Champaign, v.80, n.11, p.2866-2875, Nov. 1997.**
- KAPPEL, L.C.; INGRAHAM, R.H.; MORGAN, E.B. et al. Relationship between fertility and blood glucose and cholesterol concentrations in Holstein cows. American Journal Veterinary Research, Chicago, v.45, n.12, Dec. 1984.**



LUCY, M.C.; SOTA, R.L.; STAPLES, C.R.; THATCHER, W.W. Ovarian follicular populations in lactating dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin (sometribove) or saline and fed diets differing in fat content and energy. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, n.6, p.1024-1027, June 1993

MALVEN, P.V.; HEAD, H.H.; COLLIER, R.J.; BUONOMO, F.C. Periparturient changes in secretion and mammary uptake of insulin and in concentrations of insulin and insulin-like growth factors in milk of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.70, n.11, p.2254-2265, Nov. 1987.

MCGUIRE, M.A.; GRINARI, J.M.; DYWE, D.A.; BAUMAN, D.E. Role of insulin in the regulation of mammary synthesis of fat and protein. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.78, n.4, p.816-824, Apr. 1995.

McNAMARA, J.P. Role and regulation of metabolism in adipose tissue during lactation. **Journal Nutrition of Biochemistry**, v.6, p.120, June 1995.

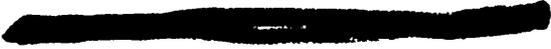
MOORE, S.J.; VANDERHAAR, M.J.; SHARMA, B.K.; PILBEAM, T.E.; BEEDE, D.K.; BUCHOLTZ, H.F.; LIESMAN, J.S.; HORST, R.L.; GOFF, J.P. Effects of altering dietary cation-anion difference on calcium and energy metabolism in peripartum cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.83, n.9, p.2095-2104, Sept. 2000.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th ver. ed. Natl. Acade. Sci., Washington, D.C. 2001

ROSENBERGER, G.; RAREY, V.P. **Clinical biochemistry of domestic animals**. California: W.B. Saunders Company, 1979. 453p.

SAS INSTITUTE. **Language and procedures: Syntax**, version 6.12, Cary: 1996. 176 p.

VASQUEZ-AÑON, M.; BERTICS, S.; LUCK, M.; 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



ZWIERZCHOWSKI, L. Hormonal control of cell division and DNA synthesis in the mammary gland. In: MARTINET, J.; HOUDEBINE, L.; HEAD, H. **Biology of lactation**. Paris: INSERM/INRA, 1999. 670p.

CAPÍTULO IV

PRODUÇÃO DE LEITE

RESUMO

TEIXEIRA, Lucia de Fátima Andrade Correia. **Efeito do estradiol, dietas e período seco sobre a produção de leite de vacas Holandesas** Lavras: UFLA, 2001. 150p. (Tese - Doutorado em Zootecnia)¹.

Foram avaliados os efeitos de dietas aniônicas (-136 meq/kg) e catiônicas, (+73 meq/kg) associadas ou não ao uso de estradiol nos períodos secos de trinta e sessenta dias sobre as dez semanas iniciais de produção de leite, distribuídas aleatoriamente em um esquema fatorial 2x2+2. O presente experimento foi desenvolvido na Unidade de Pesquisa em gado de leite da Universidade da Flórida (DRU), na cidade de Gainesville. Foram utilizados os seguintes tratamentos experimentais no pré-parto: 1.dieta aniônica e período seco de 30 dias (DA30); 2.dieta catiônica e período seco de 30 dias (DC30), 3.dieta aniônica, período seco de 30 dias e aplicação de estradiol (DA30E); 4.dieta catiônica, período seco de 30 dias e aplicação de estradiol (DC30E); 5.dieta aniônica e período seco de 60 dias (DA60); 6.dieta catiônica, período seco de 60 dias (DC60). As dietas foram fornecidas por 21 dias no período pré-parto, após o qual, as vacas passaram a receber uma dieta padrão de lactação. Os animais foram submetidos a duas faixas de temperaturas médias: abaixo de 26^o C e pariram no outono (Estação 1) e a acima de 26^o C, temperaturas extremas e pariram no verão (Estação 2), entretanto não houve diferença significativa entre estações, nem entre semanas de lactação. As interações entre tratamentos, estações e semanas foram significativas (P<0,05). Os tratamentos apresentaram efeito significativo sobre a produção de leite (P<0,05), sendo que o fornecimento de dietas aniônicas no pré-parto, associado ao período seco de 60 dias resultou em maior produção leiteira, dentro das condições experimentais, provavelmente por aumentar o consumo e reduzir a hipocalcemia. Embora a dieta aniônica tenha resultado em maiores produções no período seco de 30 dias quando comparadas a dietas catiônicas no mesmo período seco, este parece não ser tempo suficiente para completar o crescimento e renovação das células epiteliais mamárias, influenciando negativamente na produção de leite. A utilização de estradiol no período seco de 30 dias resultou em menores produções de leite, devido ao menor consumo observado e provavelmente à menor proliferação de células mamárias durante a lactação, entretanto, estes resultados não podem ser conclusivos, devido ao pequeno número de animais utilizados neste experimento

¹ Comitê Orientador: Juan Ramon Olalquiaga Pérez (orientador); , H. Herbert Head - University of Florida.; José Camisão de Souza - UFLA; Joel Augusto Muniz - UFLA.

e ao fato de que animais que utilizam estradiol apresentam picos tardios. Portanto, estudos adicionais são recomendados para checar estes efeitos.

ABSTRACT

TEIXEIRA, Lucia de Fátima Andrade Correia. **Milk Production**. Lavras: UFLA, 2001. 150p. (Tese - Doutorado em Zootecnia)¹.

The effects of anionic (-136 meq/kg) and cationic diets (+73meq/kg), associated or not with estradiol injection were evaluated in 30 days and 60 days dry period on milk production. This trial was undertaken in Dairy Research Unit of Florida University, in Gainesville. Forty cows were assigned randomly to diet in a 2x2+2 factorial arrangement for 21 days in prepartum the following treatments were tested: 1. anionic diet , 30 days dry period (AD30) 2. cationic diet and 30 days dry period (CD30), 3.anionic diet, 30 days dry period and estradiol injection (AD30E) 4.cationic diet, 30 days dry period and estradiol injection (CD30E); 5.anionic diet, 60 days dry period (AD60);6.cationic diet, 60 days dry period (CD60). After calving a standard dairy diet was fed to all cows postcalving for more 21 days. the cows were under two different range of temperatures: up to 26⁰ C, that calved in Autumn (season 1) and higher than 26⁰ C, (extreme temperatures) and calved in Summer (season 2). However, neither seasons nor weeks of lactation affected the milk production (P>0.05). Triple interaction between treatments, seasons and weeks was significant (P<0,05).Treatments affected milk production (P<0,05), cows fed with anionic in prepartum, in 60 days dry period showed the best milk production, under experimental conditions, supporting by higher intakes and prevention of hipocalcemia. However, anionic increased Altought, anionic diet fed in dry period resulted in higher milk production in 30 days dry period when contrasted to cationic diets in the same dry period (CA30) , 30 days dry period decreased milk production, suggesting that it is not enough time to complete growing and remodeling of mammary epithelial cells, affecting negatively milk production. Injections of estradiol in 30 days dry period resulted in lower milk production. When diets associated to estradiol (treatments 3 and 4) were contrasted with all others, they reduced feed intake and milk production. This fact, probably is related to lesser developing of milk epithelial cells over the lactation, however these milk production results are not conclusive, because cows injected with estradiol show latter peaks and because the small number of animals used in this trial. Further trials are recommended to check these effects.

¹ Guindance Committie: Juan Ramon Olalquiaga Pérez (Adviser); H. Herbert Head - University of Florida.; José Camisão de Souza - UFLA; Joel Augusto Muniz - UFLA.

1 INTRODUÇÃO

A febre do leite é uma doença causada, basicamente, pela falha geral do sistema que acessa e utiliza o reservatório de Ca nos tecidos ósseos e o Ca suprido através da dieta. Isto ocorre porque no parto e no início da lactação, a vaca passa a drenar cerca de nove vezes a quantidade de Ca presente em todo o pool plasmático (Horst et al., 1997). Trata-se de uma doença conomicamente importante, uma vez que ocorre uma redução de 14% na produção de leite na lactação subsequente e pode haver redução de até 3,4 anos na vida produtiva do animal, quando comparadas a vacas que não apresentam a doença (Block, 1984; Erb et al., 1988)

As dietas aniônicas têm se mostrado efetivas no controle da febre da leite, por produzir uma acidose metabólica subaguda, que estimula a mobilização de Ca do osso antes da parição (Sanchez et al., 1997), e aumenta a absorção de Ca intestinal.

Muitos estudos têm mostrado o efeito benéfico das dietas aniônicas sobre consumo, redução da ocorrência da febre do leite e outros distúrbios no pré-parto, mas poucos têm demonstrado o efeito das mesmas administradas no pré-parto sobre a produção e composição do leite, entretanto espera-se que o maior consumo produzido no pós-parto pelas dietas aniônicas possa estimular a produção leiteira. Block (1984) e Beede et al. (1991) mostraram efeito positivo na produção de leite (com aumentos de 7 e 4% respectivamente) para vacas alimentadas com dietas aniônicas no pré-parto.

O estradiol foi utilizado em alguns experimentos com o objetivo de promover a mais rápida proliferação celular, acelerando a involução mamária em vacas secas, através do aumento da atividade do ativador de plasminogênio em uma extensão maior que a normalmente presente durante o início da fase de involução ativa do tecido mamário bovino (Athie et al., 1997). A quantidade de

leite produzido é determinada pelo número e atividade das células secretórias (Head, 1999). Desta maneira, a administração de estradiol exógeno, no final da remoção da lactação, oferece a oportunidade de acelerar a involução mamária, o que sugere que a redução do período seco com manutenção de uma boa produção leiteira requer aceleração da involução ativa e eliminação da fase de “steady-state”, e que o crescimento e a diferenciação do tecido mamário pode ser manipulado pela utilização do estradiol, permitindo, assim, períodos secos menores que 40 dias (Athie et al., 1996).

A composição do leite não parece ser alterada pelo uso de dietas aniônicas. Joyce, Sanchez e Goff (1997) encontraram aumentos somente para sólidos não gordurosos no leite, enquanto os outros componentes não apresentaram variações.

O objetivo do presente experimento foi testar o efeito de dietas aniônicas sobre a produção do leite, em dois períodos de secagem diferentes, associadas ou não ao estradiol.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Dietas aniônicas

Poucos são os trabalhos encontrados na literatura, relatando o efeito das dietas aniônicas sobre a produção de leite, vários deles analisam o efeito sobre controle da febre do leite (Horst et al., 1997), sem fornecer dados sobre o efeito destas sobre a lactação.

Sabe-se que as dietas aniônicas podem aumentar a absorção de Ca através da mobilização óssea, além de aumentarem a absorção intestinal, o que evita que as vacas se tornem hipocalcêmicas e conseqüentemente, que desenvolvam febre do leite. Beede et al. (1991), fornecendo uma dieta de -25 meq/100 g, nas últimas 3 semanas que antecedem o parto, observaram um aumento de 326 l de leite além da redução do número de serviços /concepção e dias para entrar no cio. Também Block (1984), observou que vacas que não consumiram dietas aniônicas apresentaram uma redução de 14% na lactação subsequente, enquanto que as vacas que receberam dietas aniônicas aumentaram sua produção em 4%. O mesmo foi relatado por Joyce, Sanchez e Goff (1997) os quais , observaram aumentos na produção leiteira nas primeiras quatro semanas, ao fornecer dietas aniônicas no pré-parto, embora os animais tivessem apresentado menor consumo neste período.

2.2 Lactação induzida

A produção de leite está intimamente ligada ao desenvolvimento e proliferação das células mamárias, sendo que o maior crescimento dessa nova glândula mamária ocorre durante o período seco (45 a 60 dias para vacas). Este período tão curto serve como modelo para duplicar, quando usamos injeções

esteróides e outros tratamentos para induzir lactação. Uma vez que as glândulas mamárias envolvem e são capazes de crescer, remodelar e funcionar em tão curto período de tempo, isto nos sugere que nós também podemos causar estas mudanças em um curto período de tempo pela injeção de hormônios, na ausência de gestação (Head , 1999)

A curva de lactação para vacas com lactação induzida por hormônios é rebaixada (menor pico de produção) e os animais usualmente alcançam seu pico de produção mais tarde. A maior proporção da produção de leite após a indução, ocorre durante os últimos dois terços da lactação e o pico pode não ocorrer até os 3 ou 4 meses de lactação, comparadas a vacas não induzidas que normalmente alcançam o pico de produção dentro de 3 a 8 semanas pós-parto. Utilizando-se modelos de predição para lactações naturais, que são estendidos para 305 dias, eles poderão subestimar a produção real em até 20% (Head et al., 1982).

Os níveis de produção de leite estão associadas parcialmente, às mudanças de concentrações hormonais. Produções inferiores de leite, durante a lactação induzida, podem estar associadas a altas concentrações de estrógenos e redução de progesterona (Head et al., 1999). McGuire et al. (1995) observaram que a produção de leite está ligada diretamente ao aumento da produção de insulina pelo pâncreas, aumentando a produção de leite.

2.3 Efeitos sazonais sobre a produção de leite

As variações sazonais na composição do leite são comumente observadas. Tanto o calor, quanto o frio aumentam as exigências dos bovinos, entretanto, o stress do frio aumenta o consumo alimentar (Brouck, Smith e Harner, 2001), que evita a redução da produção de leite. Em contraste, o stress do calor reduz o consumo alimentar, principalmente o consumo de forragens

(Coollier, 1995) e aumenta o consumo de água, causando um rápido declínio na produção de leite, enquanto as exigências de manutenção aumentam e o consumo de nutrientes diminui (NRC, 1989) Além disso, ocorre uma redução de 30 a 50% na eficiência de utilização de energia para produção de leite (Brouk, Smith e Harner, 2001).

Vacas multíparas parindo no verão apresentam produção 1% maior depois do 11^o mês de lactação que vacas parindo no inverno (Stanton et al., 1988) e também observaram que o pico de produção, para vacas parindo no verão, foi menor, embora a persistência tenha sido, provavelmente devido a temperaturas mais frias na metade posterior da lactação.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizadas 40 vacas holandesas múltíparas, comprovadamente prenhes, com escore corporal entre 3,25 a 3,75 selecionadas do rebanho da Unidade de Pesquisa de Bovino Leiteiro (Dairy Research Unit – DRU) da Universidade da Flórida. À medida em que os animais atingiam o período desejado para secagem (30 ou 60 dias antes do parto), os animais eram retirados do grupo de produção, tratados contra endo e ectoparasitas e pesados. Após avaliado o escore de condição corporal (1-5, magro a obeso, Edmonton et al., 1989), juntavam-se ao grupo seco (no caso de período seco de 60 dias) em um piquete específico, ou eram diretamente alojados em um sistema de free-stall com solário, onde permaneciam por todo o período experimental. Aos 30 dias anteriores à data prevista de parição, os animais secos com 60 dias, se juntavam aos animais no free-stall, onde recebiam aleatoriamente um dos 6 tratamentos experimentais, constituídos da seguinte maneira:

1. Dieta aniônica, associada ao período seco de 30 dias;
2. Dieta catiônica, associada ao período seco de 30 dias;
3. Dieta aniônica, associada ao período seco de 30 dias e aplicação de estradiol cipionato (ECP);
4. Dieta catiônica, associada ao período seco de 30 dias e aplicação de estradiol cipionato (ECP);
5. Dieta aniônica, associada ao período seco de 60 dias;
6. Dieta catiônica, associada ao período seco de 60 dias.

As dietas aniônicas e catiônicas foram feitas a base de silagem de milho, feno de alfafa, caroço de algodão, polpa cítrica, grãos de destilados e uma mistura de grãos, apresentando 51% de MS, 16% de PB, 64% de NDT, 1,6% de Ell, 37% de CNE, 25,36 e 25,93 de FDA e 37,09 e 37,86% de FDN e um DCAD de -136 e +73 meq/kg, respectivamente, para dietas aniônicas e catiônicas. Para obtenção das dietas aniônicas, utilizou-se adição de cloreto de de amônio.

O peso inicial das vacas variou entre 519 e 833 kg e o escore de condição corporal entre 2,5 a 4,75, embora inicialmente, tenham sido selecionadas vacas de ECC entre 3,25 a 3,75, entretanto, fatores de manejo e arraçamento modificaram esta característica do período mais distante da parição até o período de transição mais próximo à parição. Todas as vacas entraram no período experimental entre 23/06/1999 a 28/10/1999 e pariram entre 23/08 a 08/12. Cada vaca ficou submetida a uma temperatura média entre 16° C a 29° C . As produções médias na lactação anterior foram de 25 a 36,17 kg/dia

Após o parto, as vacas foram pesadas, avaliado o ECC e transferidas para a ala do grupo de lactação, sob a mesma instalação, quando passavam a receber a dieta de lactação na forma de ração total, baseada em silagem de milho e sorgo, feno de alfafa, caroço de algodão, polpa cítrica e mistura de grãos concentrados (Tabela 24). Toda a semana, as rações aniônicas, catiônicas e de lactação eram amostradas e posteriormente, foram misturadas, amostradas (cerca de 40 g) e enviadas para o NEDHIA Forage Laboratory (Ithaca, NY) para análise de MS, PB, FDA, FDN, PB, NDT e EE.

O sistema de arraçamento foi o mesmo adotado no pré-parto, com ajuste de quantidades, sistema Calan-gate e controle do consumo, a fim de se avaliar o efeito das dietas do pré-parto, sobre o consumo no pós-parto e lactação. Os animais eram ordenhados três vezes ao dia, sempre em torno de 9, 17 e 01:00.

3.2 Ordenha

Todas as vacas foram ordenhadas em uma sala de ordenha no formato de espinha de peixe duplo 8 equipado com ordenhadeiras DeLaval e um sistema de identificação dos animais com transponder e pesagem computadorizada, sendo que as produções de leites individuais eram computadas, diariamente, para cada ordenha, a partir da 2ª ordenha até 70 dias pós-parto. As vacas eram ordenhadas três vezes ao dia , sempre em torno de 9, 17 e 01:00 h. Elas eram trazidas para um pátio anterior à sala de ordenha, antes de cada ordenha e lavadas automaticamente, por um sistema de aspersão situados no chão abaixo das tetas das vacas (3 ciclos, por cerca de 5 minutos). Terminada a ordenha, suas tetas eram imersas em solução iodada e então retornavam para o estábulo.

TABELA 10. Composição da dieta fornecida no pós-parto.

Ingredientes	Dieta pós-parto (%MS)
Feno de alfafa	13,81
Silagem de milho	17,90
Silagem de sorgo	1,58
Caroço de algodão	11,33
Polpa cítrica	12,82
Milho grão	19,18
Farelo de soja	10,18
Resíduos de destilaria	9,37
Premix mineral*	3,78
Biocycle Plus**	0,05
TOTAL	100
Composição Química	%
Matéria seca	61,69
Proteína Bruta	17,92
Na	0,08
K	1,28
Cl	0,56
S	0,30
NDT	71,16
Energia líquida de lactação (EII)	1,76
Fibra em detergente neutro (FDN)	32,77
Fibra em detergente ácido (FDA)	22,15
Diferença Cátion-ânion (DCAD)	+2,44

* Equivalente protéico de NNP=22,8, cálcio=mínimo de 8,5 e máximo de 9,5, P=mínimo de 0,1, sal= mínimo de 2, máximo de 2,5, Na=mínimo de 7,5, máximo de 7,9 K=mínimo de 3, Se=mínimo de 7 ppm, vitamina A=mínimo de 64.000 UI/lb Todos os componentes estão expressos em %

** Biocycle Plus= resíduo de destilaria seco, carbonato de cálcio, ovo seco, ácido aspártico, ácido láctico, lactato de Ca, mononitrato de tiamina, ácido cítrico, pantotenato de cálcio, ácido fumárico, levedura seca ativa, K iodado, dióxido de sílica, produzido por Select Sires, Inc.

3.3 Delineamento estatístico

Os tratamentos (dietas) foram distribuídos aleatoriamente aos animais, em delineamento inteiramente ao acaso, em um esquema fatorial $(2 \times 2) + 2$, constituído por 2 períodos secos (30 e 60 dias), 2 tipos de ração (aniônica e catiônica) e dois tratamentos adicionais (uso ou não de estradiol somente para o período seco de 30 dias), perfazendo um total de 6 dietas.

Foram utilizados 40 animais, em um modelo desbalanceado, sendo que os tratamentos foram constituídos por 6, 6, 6, 7, 8 e 7 vacas, respectivamente, para os tratamentos 1,2,3,4,5, e 6. Cada vaca constituiu uma repetição, segundo o seguinte modelo estatístico, utilizado para descrever a produção de leite:

$$Y_{ijklm} = \mu + t_i + p_j + tp_{ij} + e_{ijk} + l_l + tl_{il} + pl_{jl} + tpl_{ijl} + e_{ijkl}$$

onde:

Y_{ijklm} = produção de leite;

μ = média geral;

t_i = efeito dos tratamentos i ($i=1,2,3,4,5,6$);

p_j = efeito das estações de parição j ($j=1,2$);

tp_{ij} = efeito da interação entre os tratamentos i e as estações de parição j ;

e_{ijk} = erro experimental da subparcela a associado ao efeito de vaca k no tratamento i e estação de parição j , que por hipótese; apresenta distribuição normal e independente, média 0 e variância σ_a^2

l_l = efeito das semanas de lactação l ($l=1, \dots, 10$);

tl_{il} = efeito da interação entre os tratamentos i e as semanas de lactação l ;

pl_{jl} = efeito da interação entre estação de parição j e semanas de lactação l ;

$\tau_{pl_{ijl}}$ = efeito da interação entre os tratamentos i , a estação de parição j e semanas de lactação l ;

e_{ijkl} = erro residual que por hipótese apresenta distribuição normal e independente, média 0 e variância σ^2

As produções de leite foram computadas para o mesmo animal, constituindo portanto, um esquema fatorial, com medidas repetidas no tempo.

3.4 Análises experimentais e estatísticas

Foi analisada a produção de leite em 10 semanas de lactação. As análises estatísticas foram efetuadas, utilizando-se os procedimentos dos modelos lineares gerais (PROC GLM) e REG do programa computacional SAS (1996). Para tratamentos significativos, utilizou-se comparação de médias, através de contrastes ortogonais.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos apresentaram efeito significativo sobre a produção de leite ($P < 0,05$) (Tabela 26A), entretanto, as estações e semanas não apresentaram efeito significativo ($P > 0,05$), somente quando interagiram entre si ($P < 0,05$). Quando contrastadas dietas aniônicas com dietas catiônicas, com período seco de 30 dias observou-se maior produção dos animais que receberam dietas aniônicas (33,36 x 27,78 kg/dia), ($P < 0,01$) (Tabela 27 e 28 A), o mesmo ocorreu quando se comparou dietas aniônicas e catiônicas para vacas secas aos 60 dias ($P < 0,01$), (38,53 x 33,77 kg de MS/dia), mostrando a efetividade da dietas aniônicas na indução da captação de maiores quantidades de cálcio para a glândula mamária, no início da lactação, evitando que as vacas se tornem hipocalcêmicas, devido a grande mobilização de cálcio na formação do colostro (Coppock, 1974 e Swanson, 1967), além de produzir maior consumo, conforme observado no capítulo 2.

Quando se contrastou dietas associadas ao período seco de 30 dias com dietas associadas ao período seco de 60 dias, o período seco convencional resultou em maiores produções que o período seco curto (30,57 x 36,16), ($P < 0,01$), (Tabela 27 A), o que concorda com os resultados de Coppock (1974) e Swanson (1967) de que o período seco menor que 40 dias resulta na redução de produção do leite durante a lactação seguinte, por não propiciar às vacas leiteiras, tempo suficiente para completar a involução mamária e crescimento, discordando das observações de Capuco, Akers e Smith (1997), os quais concluíram que involução e regressão mamária são termos impróprios para o período de 60 dias que antecede o parto, uma vez que estes não observaram redução da quantidade de DNA, o que indica que não ocorreu perda de células mamárias durante este período. O que ocorreria seria uma substituição ou

renovação de células danificadas e que 35 dias seria tempo suficiente para completar esta involução antes do parto.

O contraste entre dieta aniônica e catiônica, associadas a período co curto, suplementadas com estradiol, não apresentou diferenças na produção de leite ($P>0,05$), embora tenha ocorrido maior consumo quando se utilizou dieta aniônica associada a estradiol (capítulo 2). Este não resultou em maior produção de leite contudo, a redução da produção de leite em períodos secos curtos, não foi evitada quando se utilizou estradiol. Quando se comparou as dietas aniônicas e catiônicas, no período de 30 dias, associadas a estradiol e aos demais tratamentos, observou-se que os tratamentos associados ao estradiol resultaram em menores produções de leite (28,10 x 33,36 kg de MS). Esta redução pode ser explicada por três hipóteses: 1. altas concentrações de estrógeno, acrescidas de estrógeno exógeno e redução de progesterona, levam a redução do consumo (Grummer, 1993), (observada no capítulo 2), reduzindo a produção de leite, 2. formação de novas células mamárias, com diferenciações citológicas continuam a ocorrer em lactações induzidas por esteróides (Head, 1999), causando um desenvolvimento incompleto do tecido secretor mamário, 3. aumento mais lento de produção de leite, com picos mais tardios, o que só poderia ser avaliado somente se fosse computada toda a lactação

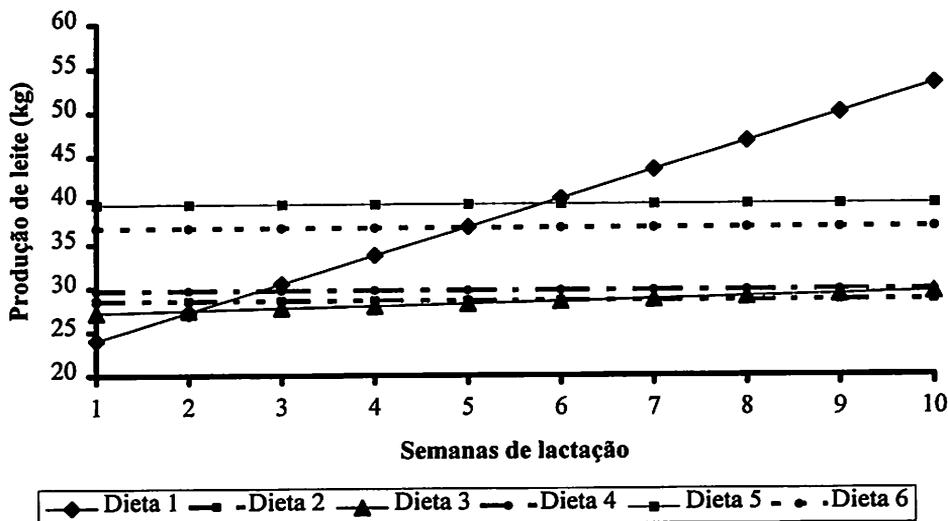
Também foram observados efeitos (Tabela 29 A) de semanas (Figura 11 e tabelas 10 e 11), estações (Tabela 12), e tratamentos, quando interagidos entre si, sobre as produções ($P<0,05$). Ao se comparar o efeito de estação, não se observou diferença significativa entre as produções por tratamento por semana, embora tenha se observado uma tendência de maior produção na estação 1, entretanto o único tratamento que mostrou menor produção na estação 2, foi o tratamento 1 na semana 7 ($P<0,05$).

Em relação a semanas de produção, observou-se efeito linear crescente do tratamento 1 (Figura 11), sobre a produção de leite, sem que o pico de

produção houvesse sido atingido até a 10^a semana. Esse aumento na produção ao longo das semanas no tratamento 1, sugere a efetividade da dieta aniônica, no aumento de produção, quando a temperatura foi mais baixa, favorecendo o consumo e o controle da hipocalcemia. O mesmo não foi observado na estação 2, apresentando uma resposta quadrática, com menor produção. Um efeito linear (Figura 11) também foi observado sobre a produção dos animais submetidos ao tratamento 6 e 4, o que parece ser explicado pela ação do estradiol, na produção de menores produções iniciais e pico de lactação tardio para o último tratamento (Head, 1999).

PRODUÇÃO DE LEITE NA ESTAÇÃO 1- GRÁFICO

A



PRODUÇÃO DE LEITE NA ESTAÇÃO 2- GRÁFICO

B

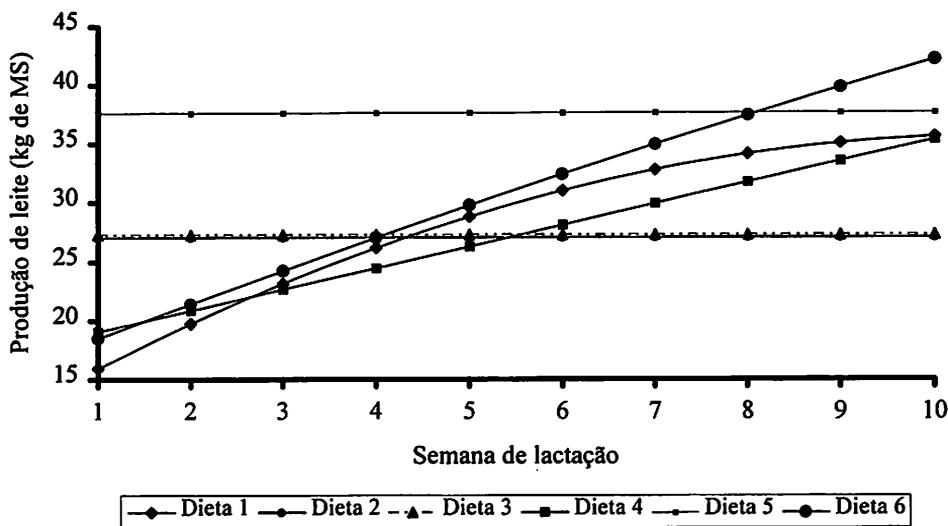


FIGURA 11 . Produção de leite na estação 1 e estação 2.

TABELA 10. Equações de regressão para produção de leite em relação às semanas de lactação.

TABLE 10. Regression equations for milk production according to weeks of lactation.

Tratamentos (Treatments)	R ²	Equações de regressão (Regression equations)
1	0,8597	Y= 20,766 + 3,2271X
3	0,5346	Y= 26,9107 + 0,2493X

TABELA 11. Equações de regressão para produção de leite em relação às semanas de lactação.

TABLE 11. Regression equations for milk production according to weeks of lactation.

Tratamentos (Treatments)	R ²	Equações de regressão (Regression equations)
2	0,9276	Y= 11,6708 + 4,451 x - 0,2065 x ²
4	0,7757	Y= 17,2647 + 1,800 x
6	0,9932	Y=15,5177 + 3,0196 x - 0,0358 x ²

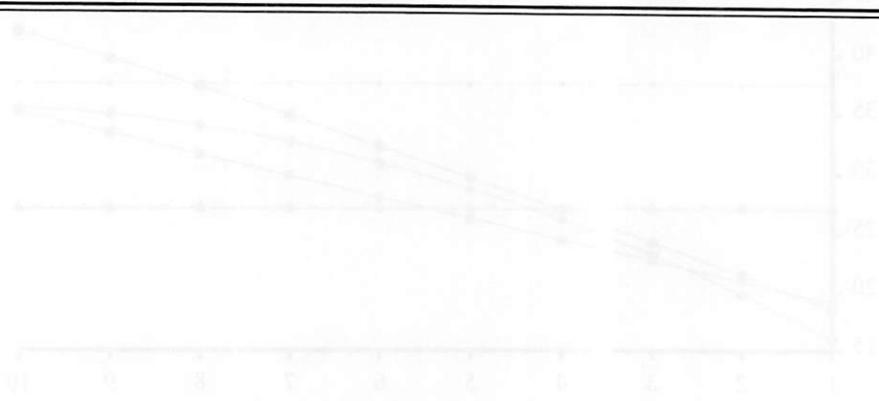


TABELA 12. Teores médios de produção de leite corrigidos para 3,5% de gordura (PLC) das estações, em relação aos tratamentos e semanas.

TABLE 12. Average contents of milk yield corrected by 3.5% fat (MYC) for the different seasons, according to treatments and weeks.

Semanas (Weeks)	Tratamentos (Treatments)											
	1		2		3		4		5		6	
	Estações (Seasons)											
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1	18,36 ^a	14,81 ^a	17,87 ^a	19,13 ^a	17,84 ^a	17,04 ^a	16,24 ^a	15,59 ^a	24,97 ^a	26,05 ^a	24,17 ^a	15,13 ^a
2	24,14 ^a	18,93 ^a	27,17 ^a	12,59 ^a	27,91 ^a	27,94 ^a	27,62 ^a	24,15 ^a	30,60 ^a	31,84 ^a	33,93 ^a	22,08 ^a
3	32,41 ^a	21,24 ^a	28,66 ^a	24,86 ^a	32,79 ^a	27,29 ^a	31,00 ^a	18,61 ^a	38,20 ^a	35,24 ^a	35,46 ^a	23,79 ^a
4	32,77 ^a	24,42 ^a	30,03 ^a	27,77 ^a	28,33 ^a	21,83 ^a	31,20 ^a	22,65 ^a	38,72 ^a	36,88 ^a	34,63 ^a	26,12 ^a
5	37,99 ^a	28,84 ^a	30,40 ^a	28,97 ^a	28,39 ^a	25,32 ^a	30,02 ^a	28,32 ^a	40,29 ^a	36,02 ^a	37,12 ^a	29,48 ^a
6	44,27 ^a	30,90 ^a	25,99 ^a	27,86 ^a	29,35 ^a	28,03 ^a	34,90 ^a	30,71 ^a	40,56 ^a	41,78 ^a	39,87 ^a	32,75 ^a
7	49,38 ^a	33,18 ^b	28,71 ^a	31,92 ^a	27,48 ^a	19,35 ^a	32,31 ^a	29,65 ^a	41,70 ^a	40,43 ^a	37,59 ^a	34,94 ^a
8	41,28 ^a	34,82 ^a	27,41 ^a	29,30 ^a	26,58 ^a	27,51 ^a	28,01 ^a	27,22 ^a	41,40 ^a	38,95 ^a	38,54 ^a	37,29 ^a
9	43,92 ^a	35,40 ^a	27,47 ^a	30,51 ^a	31,81 ^a	30,78 ^a	28,06 ^a	32,36 ^a	47,66 ^a	41,56 ^a	38,27 ^a	39,03 ^a
10	54,83 ^a	34,43 ^b	26,42 ^a	28,01 ^a	26,63 ^b	36,14 ^a	31,23 ^a	37,63 ^a	41,51 ^a	41,46 ^a	41,51 ^a	42,19 ^a

^{a,b} Médias, nas colunas, quando comparadas duas a duas, dentro de tratamento, seguidas de letras diferentes, diferem ($P < 0,05$) pelo teste t, por dieta, dentro de semana e estação

^{a,b} Means, in columns, according treatments, followed by different letters by diet, differ ($P < 0,01$), by t test, according week and season

5 CONCLUSÕES

O fornecimento de dietas aniônicas no pré-parto, associado ao período seco de 60 dias resultou em maior produção leiteira, dentro das condições experimentais, provavelmente por aumentar o consumo e reduzir a hipocalcemia.

Embora a dieta aniônica tenha resultado em maiores produções no período seco de 30 dias quando comparadas a dietas catiônicas no mesmo período seco, este parece não ser tempo suficiente para completar o crescimento, e renovação das células epiteliais mamárias, pois quando se comparou período seco de 30 dias com período seco de 60 dias (tratamentos 1 e 2 com 5 e 6), as dietas associadas ao período seco de 30 dias resultaram em menor produção de leite, possivelmente, devido a produção de menor quantidade de tecido secretor.

A utilização de estradiol no período seco de 30 dias resultou em menores produções de leite, provavelmente devido ao menor consumo observado e a menor proliferação de células mamárias durante a lactação, entretanto, estes resultados não podem ser conclusivos, devido ao pequeno número de animais utilizados neste experimento e ao fato dos animais apresentarem picos tardios.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATHIE, F.; BACHMAN, K.C.; HEAD, H.H.; HAYEN, M.J. Estrogen administered at final milk removal accelerates involution of bovine mammary gland. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.8, p.220-226, Aug. 1997.
- ATHIE, F.; BACHMAN, K.C.; HEAD, H.H.; HAYEN, M.J.; WILCOX, C.J. Milk plasmin during bovine mammary involution that has been accelerated by estrogen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.8, p.1561-1568, Aug. 1997.
- BEEDE, D.K.; WANG, C.; DONOVAN, G.A.; et al. Dietary cation-anion difference in late pregnancy. In: FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 28., 1991, Gainesville. **Proceedings...** Gainesville: University Press, 1991. p.98-105.
- BLOCK, E. Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.67, n.12, p.2939-2948, Dec. 1984.
- BROUK, M.J.; SMITH, J.F.; HARNER, J.P. Facility and climate effects on dry matter intake of dairy cattle. In: WESTERN DAIRY MANAGEMENT CONFERENCE, 5., 2001, Las Vegas, NV. **Proceedings...** Las Vegas, 2001. p.87-84
- CAPUCO, A.V.; AKERS, R.M.; SMITH, J.J. Mammary growth in Holstein cows during the dry period: quantification of nucleic acids and histology. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.3, p.477-487, Mar. 1997.
- COLLIER, R.J. Nutritional, metabolic, and environmental aspects of lactation In: LARSON, B.L. **Lactation**. Iowa: Iowa State University Press, 1995. 276p.

- COPPOCK, C.E.; EVERETT, R.W.; NATZKE, R.P.; AINSLIE, H.R. Effect of dry period length on Holstein milk production and selected disorders at parturition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.57, n.6, p.712-721, June 1974.
- EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D.; FARVER, T.; WEBSTER, E.G. A body condition score chart for Holstein Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.72, n.1, p.68-78, Jan. 1989.
- ERB, H.N.; GROHN, Y.T. Epidemiology of metabolic disorders in the periparturient dairy cow. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.71, n.11, p.2557-2571, Nov. 1985.
- 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.R.; BERTICS, S.J.; LACOUNT, D.W.; SNOW, J.A.; DENTINE, M.R.; STANFFACHER, R.H. Estrogen induction of fatty liver in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.73, n.6, p.1537-1543, June 1990.
- HEAD, H.H. Artificial induction of lactation. In: MARTINET, J.; HOUDEBINE, L.; HEAD, H. **Biology of lactation**. Paris: INSERM/INRA, 1999. 670p.
- HEAD, H.H.; CHAKRIYARAT, S.; THATCHER, W.W. et al. Induction of lactation: comparisons of injection of oestradiol-17 β and progesterone for 7 or 21 days on prolactin response to thyrotropin releasing hormone and milk yield in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.65, n.6, p.927-936, June 1982.
- HORST, R.L.; GOFF, J.P.; REINHARDT, T.A.; BUXTON, D.R. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.7, p.1269-1280, July 1997.
- JOYCE, P.W.; SANCHEZ, W.K.; GOFF, J.P. Effect of anionic salts in prepartum diets based on alfalfa. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.11, p.2866-2875, Nov. 1997.

McGUIRE, M.A.; GRINARI, J.M.; DWYER, D.A.; BAUMAN, D.E. Role of insulin in the regulation of mammary synthesis of fat and protein. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.78, n.4, p.816-824, Apr. 1995.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 6.ed. Washington: National Academy of Science, 1989. 157p.

SANCHEZ, W.K.; GIESY, J.G.; GRIFFEL, L.A. et al. Current strategies to prevent hypocalcemic disorders on western dairies. In: SOUTHWEST NUTRITION MANAGEMENT CONFERENCE, 1997, Phoenix. **Proceedings...** Phoenix, 1997. p.55-64.

SAS INSTITUTE. **Language and procedures: Syntax**, version 6.12, Cary: 1996. 176 p.

STANTON, T.L.; BLAKE, R.W.; TOMASZIEWSKI, M.A. et al. Predicting milk yield of Holstein cows from 306 to 395 days in milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.71, n.12, p.3425-3436, Dec. 1988

SWANSON, E.W.; PARDUE, F.E.; LONGMIRE, D.B. Comparing continuous milking with sixty day dry periods ins successive lactations. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.50, n.8, p.1288-1296, Aug. 1967.

ANEXO

- TABELA 1A.** Resumo da análise de variância do consumo pré e pós-parto (kg de MS) em função das dietas, dias e estações
Summary of analysis of variance of prepartum and postpartum intake in relation with diets, days and seasons 130
- TABELA 2A** Resumo da análise de variância para consumo no pré-parto considerando regressão em função dos dias de consumo em relação ao parto.
Summary of analysis of variance of prepartum intake considering regression in function of intake day in relation to calving..... 131
- TABELA 3A** Consumo médio das dietas (kg de MS), em relação aos dias que antecedem ao parto expresso em kg de MS e como porcentagem do peso corporal e escore de condição corporal (ECC).
Average intake of diets, as kg of DM and percentage of body weight (%BW), according to days before calving and body condition score (BCS) 132
- TABELA 4A** Resumo da análise da variância para consumo no pós-parto considerando contraste entre as dietas.
Summary of analyses of variance of postpartum intake, considering contrast between diets 133
- TABELA 5A** Contrastes ortogonais do consumo pós-parto entre dietas
. Orthogonal Contrasts between diets in postpartum 133
- TABELA 6A** Consumo médio das dietas (kg de MS), em relação aos dias posteriores ao parto.
Average intake of diets (kg of DM), according to days after calving .. 134
- TABELA 7A** Resumo da análise da variância para consumo no pós-parto, considerando regressão em função dos dias de consumo em relação ao parto.
Summary of analysis of variance of postpartum intake considering regression in function of intake day in relation to calving 135
- TABELA 8A** Equações de regressão para consumo no pós-parto em função dos dias pós-parto.
Regression equations for postpartum intake according to days after calving 135

TABELA 9A	Resumo da análise de variância de parâmetros sanguíneos em função das dietas, dias e estações. Summary of analysis of variance of blood parameters in relation with diets, days and seasons	136
TABELA 10A	Concentrações médias de hematócritos no plasma (%) nas diferentes dietas, nos dias em relação ao parto (-27 a 27 dias). Average levels of hematocrits in plasma (%) for the different diets according to days in relation to calving (from -27 to 27 days)	137
TABELA 11A	Concentrações médias de hematócritos no plasma (%) em relação a dia do parto (-27 a 27 dias) nas estações de parição (1 e 2). Average levels of hematocrits in plasma (%) according to days in relation to calving (from -27 to 27 days) in the calving seasons (1 and 2)	138
TABELA 12A	Resumo da análise da variância para hematócrito considerando regressão em função dos dias de coleta de sangue em relação ao parto (-27 a 27 dias). Summary of analysis of variance for hematocrit considering regression in function of the collection blood days in relation to calving (-27 to 27 days)	139
TABELA 13A	Equações de regressão para hematócrito em função dos dias em relação ao parto. Regression equations for hematocrit according to days in relation to calving	139
TABELA 14A	Concentrações médias de glicose no plasma (ng/ml) nas diferentes dietas, nos dias em relação ao parto (-27 a 27 dias). Average levels of glucose in plasma (ng/ml) for the different diets according to days in relation to calving	140
TABELA 15A	Equações de regressão para glicose em relação aos dias de coleta de sangue. Regression equations for glucose according to collection days	141
TABELA 16A	Resumo da análise da variância para glicose considerando regressão em função dos dias de coleta de sangue em relação ao parto (-27 a 27 dias). Summary of analysis of variance of glucose considering regression in function of the collection blood days in relation to calving (-27 to 27 days)	141

- TABELA 17A** Concentrações médias de insulina no plasma (ng/ml) nas diferentes dietas, nos dias em relação ao parto (-27 a 27 dias).
Average levels of insulin in plasma (ng/ml) for the different diets according to days in relation to calving 142
- TABELA 18A** Resumo da análise da variância para insulina considerando regressão em função dos dias de coleta de sangue em relação ao parto (-27 a 2 dias).
Summary of analysis of variance of insulin considering regression in function of the collection blood days in relation to calving (-27 to 27 days) 143
- TABELA 19A** Equações de regressão para insulina em função dos dias em relação ao parto.
Regression equations for insulin according to days in relation to calving 143
- TABELA 20A.** Concentrações médias de proteína no plasma (%) nas diferentes dietas, nos dias em relação ao parto (-27 a 27 dias).
Average levels of protein in plasma (%) for diets according to days in relation to calving (from -27 to 27 days) 144
- TABELA 21A** Resumo da análise da variância para proteína plasmática considerando regressão em função dos dias de coleta de sangue e relação ao parto (-27 a 27 dias).
Summary of analysis of variance of protein considering regression in function of the collection blood days in relation to calving (-27 to 27 days) 145
- TABELA 22A** Equações de regressão para proteína em função dos dias em relação ao parto.
Regression equations for protein according to days in relation to calving 145
- TABELA 23A.** Concentrações médias de ácidos não esterificados (AGNE) no plasma (ng/ml) nas diferentes dietas, nos dias em relação ao parto (-27 a 27 dias).
Average levels of non esterified fatty acids (NEFA) in plasma (ng/ml) for the different diets, according to days in relation to calving 146
- TABELA 24A** Resumo da análise da variância para ácido graxo não esterificado (AGNE) considerando regressão em função dos dias de coleta de sangue em relação ao parto (-27 a 27 dias).
. Summary of analysis of variance of non-esterified fatty acids (NEFA) considering regression in function of the collection blood days in relation to calving (-27 to 27 days) 147

TABELA 25A	Equações de regressão para ácido graxo não esterificado (AGNE) e função dos dias em relação ao parto. Regression equations for non-esterified fatty acids (NEFA) according to days in relation to calving	147
TABELA 26A	Resumo da análise de variância da produção de leite em função das dietas, dias e estações. Summary of analysis of variance of milk production in relation with diets, days and seasons	148
TABELA 27A	Resumo da análise da variância para produção do leite corrigida para gordura considerando contraste entre as dietas. Summary of analyses of variance of milk production corrected to fat, considering contrast between diets	149
TABELA 28A	Contrastes ortogonais da produção de leite em função das dietas. Orthogonal contrasts between milk production in function of diets	149
TABELA 29A	Resumo da análise da variância para produção de leite, considerand regressão em função das semanas, fixando-se dietas e estações. Summary of analysis of variance of milk production considerin regression in function of weeks, fixing days and seasons	150

TABELA 1A. Resumo da análise de variância do consumo pré e pós-parto (kg de MS) em função das dietas, dias e estações.

TABLE 1A. Summary of analysis of variance of prepartum and postpartum intake in relation with diets, days and seasons.

Fontes de variação (Source of variation)	G.L. (DF)	Consumo Pré-parto (Prepartum intake)		Consumo Pós-parto (Postpartum intake)		
		Q.M. (M.S.)	P>fc	G.L. (M.S.)	D.F. (Q.M.)	P>Fc
Dietas (d)	5	49,5637	0,6564	5	473,3821	0,0326
Diets (d)						
Estações (e)	1	561,4005	0,0107	1	2109,7537	0,0013
Seasons (s)						
D * e	5	43,21008	0,7181	5	67,7960	0,8373
D * s						
Erro a	28	75,0611	0,0001	28	165,1059	0,0001
Error a						
Dias	21	37,2300	0,0001	21	213,7419	0,0001
Days						
D* dias	105	4,8144	0,8994	105	16,5181	0,1951
D * days						
E * dias	21	6,0255	0,4330	21	17,8220	0,2278
S * days						
D * e* dias	105	6,6245	0,2049	105	18,3711	0,0553
D * s * days						
Erro	569	5,8921		577	14,6192	
Error						
Total corrigido	860			868		
Corrected total						
Média geral						
Intake mean		11,7225			16,8516	
CV (%)		20,7069			22,6892	

TABELA 2A. Resumo da análise de variância para consumo no pré-parto considerando regressão em função dos dias de consumo em relação ao parto.

TABLE 2A. Summary of analysis of variance of prepartum intake considering regression in function of intake day in relation to calving.

Regressões (Regression)	G.L. (D.F.)	Consumo no pré-parto (Prepartum intake)	
		Q.M.(M.S.)	P>Fc
Linear	1	2,4188	0,0001
Quadrática (Quadratic)	1	9,8199	0,0007
Cúbica (Cubic)	1	3,3765	0,0053
Erro (Residue)	18	0,3365	

TABELA 3A. Consumo médio das dietas (kg de MS), em relação aos dias que antecedem ao parto expresso em kg de MS e como porcentagem do peso corporal e escore de condição corporal (ECC).

TABLE 3A. Average intake of diets, as kg of DM and percentage of body weight (%BW), according to days before calving and body condition score (BCS).

Dias (Days)	Dietas (Diets)						Média (Mean)	EPM
	1	2	3	4	5	6		
0	5,50	8,42	7,32	8,98	8,00	9,16	6,53	0,44
-1	9,59	12,35	9,90	10,29	10,03	11,19	10,56	0,40
-2	10,15	10,54	12,17	10,78	9,25	13,43	11,05	0,40
-3	13,06	13,26	12,35	11,87	11,44	12,95	12,49	0,41
-4	12,43	13,68	12,38	11,61	10,65	11,79	12,09	0,40
-5	12,75	14,16	12,21	12,19	12,99	13,14	12,91	0,40
-6	10,35	10,91	12,55	12,74	10,66	13,47	11,78	0,40
-7	12,46	13,26	11,77	11,03	12,34	13,89	12,46	0,40
-8	10,14	11,26	12,20	11,73	12,53	14,04	11,98	0,43
-9	11,95	13,64	12,69	10,10	11,47	13,66	12,25	0,41
-10	12,73	13,68	12,35	12,10	11,64	12,37	12,49	0,40
-11	12,13	13,70	13,32	11,17	9,84	12,86	12,17	0,41
-12	11,91	13,45	11,85	11,78	11,52	12,27	12,13	0,40
-13	11,81	13,65	12,55	10,59	10,82	13,32	12,04	0,40
-14	13,07	13,61	12,63	11,31	11,49	10,88	12,17	0,40
-15	12,77	14,22	11,94	10,20	12,71	12,51	12,39	0,41
-16	12,77	13,49	11,67	10,65	12,28	11,93	12,13	0,42
-17	12,32	13,21	11,69	11,32	11,35	12,04	11,99	0,42
-18	12,50	13,26	10,77	12,06	11,18	12,89	12,11	0,41
-19	11,31	10,92	11,78	11,83	12,14	13,43	11,90	0,41
-20	12,08	12,37	10,81	11,10	11,77	11,24	11,56	0,41
-21	12,02	12,42	9,37	10,86	11,30	12,08	11,30	0,42
Médias (Means)	11,63 (0,22)	12,67 (0,22)	11,65 (0,21)	11,19 (0,21)	11,25 (0,19)	12,48 (0,22)	11,72 (0,21)	0,41

TABELA 4A. Resumo da análise da variância para consumo no pós-parto considerando contraste entre as dietas.

TABLE 4A. Summary of analyses of variance of postpartum intake, considering contrast between diets.

Fontes de variação (Sources of variation)	G.L. (D.F.)	Consumo no pós-parto (Postpartum intake)	
		Q.M. (M.S.)	P>Fc
Dietas (d) (Diets (d))	5	476,8341	0,0001
Estações (Seasons (d))	1	2221,4410	0,0001
D*s (D*s)	5	77,9878	0,0093
Erro Error	857	25,3703	
Total corrigido (Corrected total)	868		
Média geral (Intake mean)		16,8516	
Cv		29,8897	

TABELA 5A. Contrastes ortogonais do consumo pós-parto entre dietas.

TABLE 5A. Orthogonal Contrasts between diets in postpartum.

Contrastes (Contrasts)	G.L. (F.D.)	Consumo pós-parto Postpartum intake	
		Q.M. (M.S.)	P>fc
1 vs 2	1	37,0084	0,2275
5 vs 6	1	495,1938	0,0001
1 e 2 vs 5 e 6	1	7,2617	0,0407
3 vs 4	1	1423,2789	0,0001
3, 4 vs 1, 2, 5, 6	1	297,9198	0,0006

TABELA 6A. Consumo médio das dietas (kg de MS), em relação aos dias posteriores ao parto.

TABLE 6A. Average intake of diets (kg of DM), according to days after calving.

Dias (Days)	Dietas (Diets)						Médias (Means)	EPM
	1	2	3	4	5	6		
0	5,51	8,42	7,32	8,98	8,00	9,16	7,98	0,63
1	13,72	13,76	15,42	13,81	15,15	13,85	14,28	0,64
2	16,30	12,93	16,27	12,02	15,54	13,11	14,36	0,63
3	16,51	14,15	19,00	12,55	16,50	14,14	15,47	0,63
4	16,44	16,92	16,28	12,54	16,71	14,33	15,54	0,63
5	17,38	16,82	17,82	12,21	17,58	14,02	15,97	0,63
6	14,77	12,90	19,73	14,41	18,82	15,72	16,06	0,63
7	14,06	16,58	20,29	14,26	18,38	15,66	16,54	0,63
8	18,65	19,04	19,16	15,24	20,01	15,86	17,99	0,63
9	18,10	15,77	19,31	13,75	18,20	15,50	16,77	0,63
10	16,11	17,99	20,21	12,24	19,05	17,82	17,24	0,67
11	18,12	20,32	19,42	11,76	20,66	15,87	17,69	0,63
12	17,62	20,37	20,09	12,95	19,06	17,24	17,89	0,64
13	18,43	20,76	21,18	13,76	20,02	15,19	18,22	0,63
14	18,92	21,19	19,25	13,24	19,86	18,68	18,52	0,65
15	19,16	20,73	20,95	12,66	19,69	17,59	18,47	0,64
16	17,94	18,39	17,89	16,89	21,98	19,15	18,71	0,63
17	9,32	20,97	19,77	17,08	19,48	16,78	17,23	0,69
18	19,82	21,34	16,81	13,90	19,38	15,21	17,74	0,64
19	19,76	20,02	18,71	16,01	20,53	18,61	18,94	0,64
20	21,55	19,44	19,18	15,81	19,83	16,97	18,80	0,63
21	19,88	21,49	17,40	14,68	20,64	16,94	18,50	0,65
Médias (Means)	16,73 (0,35)	17,74 (0,35)	18,25 (0,33)	13,67 (0,31)	18,41 (0,28)	15,79 (0,34)	16,85	

TABELA 7A. Resumo da análise da variância para consumo no pós-parto, considerando regressão em função dos dias de consumo em relação ao parto.

TABLE 7A. Summary of analysis of variance of postpartum intake considering regression in function of intake day in relation to calving.

Regressões (Regressions)	G.L. (F.D.)	Consumo no pós-parto (Postpartum intake)	
		Q.M. (M.S.)	P>Fc
Linear (Linear)	1	74,3633	0,0001
Quadrática (Quadratic)	1	22,6257	0,0025
Cúbica (Cubic)	1	7,9329	0,0053
Erro (Error)	18	1,0524	

TABELA 8A. Equações de regressão para consumo no pós-parto em função dos dias pós-parto.

TABLE 8A. Regression equations for postpartum intake according to days after calving.

Regressão (Regression)	R ²	Equações de regressão (Regression equations)
Linear (Linear)	0,6004	$Y = 13,7217 + 0,2898X$
Quadrática (Quadratic)	0,7830	$Y = 11,7437 + 0,8832X - 0,0283X^2$
Cúbica (Cubic)	0,8471	$Y = 10,5356 + 1,6659X - 0,1236X^2 + 0,0030X^3$

TABELA 9A. Resumo da análise de variância de parâmetros sanguíneos em função das dietas, dias e estações.

TABLE 9A. Summary of analysis of variance of blood parameters in relation with diets, days and seasons.

FONTES DE VARIÇÃO (SOURCES OF VARIATION)	HEMATÓCRITO (HEMATOCRIT)		INSULINA (INSULIN)		GLICOSE (GLUCOSE)		AGNE (NEFA)		PROTEINA (PROTEIN)		
	G.L. (F.D.)	Q.M. (M.S.)	P>Fc	Q.M. (M.S.)	P>Fc	Q.M. (M.S.)	P>Fc	Q.M. (M.S.)	P>Fc	Q.M. (M.S.)	P>Fc
DIETAS (D)	5	142,3522	0,0517	0,8586	0,6619	248,8136	0,8599	606726,1553	0,0956	1,9387	0,7277
(DIETS (D))											
ESTAÇÃO(E)	1	13,5748	0,6268	1,0478	0,3797	9805,4016	0,0006	741922,2928	0,1206	7,2676	0,1575
(SEASON (S))											
D * E (D * S)	5	51,5921	0,4835	1,1328	0,5192	440,6794	0,0001	185413,4827	0,6707	2,4762	0,6149
ERRO A	28	56,1737	0,0001	1,3154	0,0001	659,1606	0,0001	289382,9286	0,0001	3,4457	0,0001
(ERROR A)											
DIAS (DAYS)	23	30,0245	0,0001	1,1015	0,0001	783,3467	0,0001	843956,1276	0,0001	4,7997	0,0001
(DAYS)											
D * DIAS	115	4,5779	0,1550	0,1386	0,4529	65,8085	0,2290	49020,0445	0,3012	0,2714	0,1243
(D * DAYS)											
E * DIAS	23	17,1475	0,0001	0,1480	0,3615	65,1821	0,3445	44701,3269	0,4924	0,3123	0,1291
(E * DAYS)											
S * DIAS	115	4,5529	0,1646	0,1317	0,5942	43,8647	0,9781	39528,8133	0,8312	0,1807	0,9508
(S * DAYS)											
Erro (Error)		3,9848		0,1370		59,5037		45712,0039		0,2318	
GL do erro		629		624		625		596		630	
(DF of error)											
Total Corrigido (Corrected Total)	944			939		940		911		945	
Média geral (General Mean)		30,7165		0,8542		67,8798		317,0080		6,8186	
CV (%)		6,4987		43,3261		11,3640		67,4443		7,0605	

TABELA 10A. Concentrações médias de hematócritos no plasma (%) nas diferentes dietas, nos dias em relação ao parto (-27 a 27 dias).

TABLE 10A. Average levels of hematocrits in plasma (%) for the different diets according to days in relation to calving (from -27 to 27 days).

Dias (Days)	Dietas (Diets)						Média (Mean)	EPM
	1	2	3	4	5	6		
-27	33,10	32,49	33,92	30,92	28,09	31,12	31,61	0,34
-25	32,21	32,23	33,08	32,10	29,29	30,60	31,59	0,34
-23	32,19	31,83	32,80	30,72	29,30	30,66	31,25	0,33
-20	33,21	31,81	31,37	30,37	28,32	30,00	30,85	0,33
-18	33,33	32,09	31,30	29,72	27,95	29,89	30,71	0,33
-16	32,49	31,60	31,13	31,33	29,46	30,10	31,02	0,33
-13	33,35	30,85	31,28	31,81	29,33	30,71	31,22	0,33
-9	32,68	31,44	32,37	30,35	29,37	30,40	31,10	0,33
-6	33,98	32,08	31,77	32,56	30,13	30,84	31,89	0,33
-4	31,75	29,99	32,08	30,80	28,95	30,73	30,72	0,33
-2	33,76	31,28	32,28	31,36	29,74	31,96	31,73	0,33
0	33,66	32,21	34,43	33,45	30,73	34,20	33,11	0,33
2	33,41	32,21	31,38	31,98	30,53	33,52	32,17	0,33
4	32,55	32,39	30,93	30,57	31,34	32,97	31,79	0,33
6	31,88	30,41	30,93	31,16	29,15	31,93	30,91	0,33
9	30,93	28,98	30,83	30,70	27,87	31,03	30,06	0,33
11	30,74	30,01	30,07	29,51	28,51	32,04	30,15	0,33
13	31,46	29,79	29,92	30,42	28,68	31,65	30,32	0,33
16	30,09	30,58	30,25	30,54	28,78	30,37	30,10	0,33
18	30,66	29,78	29,33	30,17	28,40	30,31	29,78	0,33
20	30,14	30,01	29,47	29,11	28,45	31,07	29,71	0,33
23	29,34	29,00	30,40	29,84	29,11	30,90	29,77	0,33
25	29,64	31,24	30,08	28,97	29,48	29,85	29,88	0,33
27	30,25	29,18	31,27	29,08	29,89	29,01	29,78	0,34
Médias (Means)	31,95 (0,17)	30,98 (0,17)	31,36 (0,16)	30,73 (0,16)	29,20 (0,14)	31,08 (0,15)	30,72	

TABELA 11A. Concentrações médias de hematócritos no plasma (%) em relação ao dia do parto (-27 a 27 dias) nas estações de parição (1 e 2).

TABLE 11A. Average levels of hematocrits in plasma (%) according to days in relation to calving (from -27 to 27 days) in the calving seasons (1 and 2).

Dias	Estação 1	Estação 2
-27	30,99	32,22
-25	31,79	31,38
-23	30,84	31,66
-20	30,22	31,47
-18	30,32	31,10
-16	30,95	31,09
-13	30,96	31,49
-9	30,70	31,51
-6	31,25	32,53
-4	30,12	31,31
-2	31,01	32,46
0	32,32	33,91
2	32,63	31,71
4	31,62	31,96
6	31,12	30,70
9	31,14	28,97
11	30,30	29,99
13	31,42	29,22
16	30,73	29,47
18	30,92	28,64
20	30,88	28,53
23	30,50	29,03
25	30,78	28,98
27	30,62	28,94
Médias (Means)	31,00 (0,09)	30,76 (0,09)

TABELA 12A. Resumo da análise da variância para hematócrito considerando regressão em função dos dias de coleta de sangue em relação ao parto (-27 a 27 dias).

TABLE 12A. Summary of analysis of variance for hematocrit considering regression in function of the collection blood days in relation to calving (-27 to 27 days),

Fontes de variação (Sources of variation)	G.L. (D.F.)	Hematócrito (Hematocrit)	
		Q.M. (M.S.)	P>Fc
Linear (Linear)	1	6,8366	0,1240
Quadrática (Quadratic)	1	3,1562	0,0143
Cúbica (Cubic)	1	0,0036	0,9283
Erro (Error)	20	0,4385	

TABELA 13A. Equações de regressão para hematócrito em função dos dias em relação ao parto

TABLE 13A. Regression equations for hematocrit according to days in relation to calving

Regressões (Regressions)	R ²	Equações de regressão (Equations of regression)
Linear (Linear)	0,3643	$Y = 30,8999 - 0,0325X$
Quadrática (Quadratic)	0,5325	$Y = 31,3021 - 0,0329X - 0,0015X^2$
Cúbica (Cubic)	0,2288	$Y = 31,3032 - 0,0347X - 0,0015X^2 + 0,0000004X^3$

TABELA 14A. Concentrações médias de glicose no plasma (ng/ml) nas diferentes dietas, nos dias em relação ao parto (-27 a 27 dias)

TABLE 14A. Average levels of glucose in plasma (ng/ml) for the different diets according to days in relation to calving

Dias (Days)	Dietas (Diets)						Médias (Means)	EPM
	1	2	3	4	5	6		
-27	71,80	71,56	72,40	75,57	74,15	72,64	73,02	1,32
-25	73,86	65,70	72,12	72,65	74,77	76,31	72,57	1,31
-23	73,16	67,57	70,73	70,48	69,92	72,45	70,72	1,29
-20	75,89	72,67	72,66	73,76	71,20	74,23	73,40	1,29
-18	73,41	75,89	68,85	72,90	73,47	74,52	73,17	1,29
-16	77,05	72,54	62,05	69,93	75,11	77,55	74,04	1,29
-13	72,44	67,62	72,37	69,17	72,48	70,12	70,70	1,26
-9	73,11	67,18	73,44	71,16	72,85	74,87	72,10	1,29
-6	75,72	66,06	69,39	70,48	72,14	75,44	71,54	1,26
-4	75,65	74,53	73,99	63,76	65,93	72,58	71,57	1,26
-2	73,68	75,75	74,09	68,21	71,95	74,74	73,07	1,35
0	71,40	71,31	77,55	67,76	71,75	80,94	73,45	1,29
2	69,96	70,95	71,49	60,85	65,02	70,40	68,11	1,26
4	62,79	61,53	66,26	65,35	58,93	86,46	63,55	1,26
6	56,26	59,94	69,24	63,85	60,97	62,95	62,20	1,26
9	60,69	62,03	66,76	66,76	62,24	57,42	62,65	1,37
11	55,63	64,51	70,80	68,56	58,03	62,19	63,29	1,26
13	56,98	60,39	63,69	62,29	62,30	65,34	61,83	1,26
16	50,56	64,71	69,66	69,87	62,55	62,69	63,34	1,31
18	60,09	61,80	67,50	65,22	61,72	64,83	63,53	1,26
20	58,40	57,73	67,20	63,14	65,84	63,96	62,71	1,26
23	60,01	62,61	62,43	66,34	61,02	63,18	62,60	1,26
25	63,49	65,39	67,00	64,06	64,60	68,27	65,47	1,26
27	65,82	68,22	65,69	64,54	63,42	65,26	65,49	1,33
Médias (Means)	66,99 (0,68)	67,01 (0,69)	69,89 (0,65)	67,90 (0,63)	67,18 (0,57)	69,56 (0,60)	67,88	

TABELA 15A. Equações de regressão para glicose em relação aos dias de coleta de sangue

TABLE 15A. Regression equations for glucose according to collection days

Regressões (Regression)	R ²	Equações de regressão (Regression equations)
Linear (Linear)	0,4559	Y= 68,1928 - 0,2289x
Quadrática (Quadratic)	0,6706	Y= 68,1856 - 0,2289x + 0,0002x ²
Cúbica (Cubic)	0,8245	Y= 68,3397 - 0,4955x - 0,0002x ² + 0,0005x ³

TABELA 16A. Resumo da análise da variância para glicose considerando regressão em função dos dias de coleta de sangue em relação ao parto (-27 a 27 dias)

TABLE 16A. Summary of analysis of variance of glucose considering regression in function of the collection blood days in relation to calving (-27 to 27 days)

Fontes de variação (Sources of variation)	G.L. (F.D)	Glicose (Glucose)	
		Q.M. (M.S.)	P>fc
Linear (Linear)	1	338,1272	0,0001
Quadrática (Quadratic)	1	0,0010	0,9092
Cúbica (Cubic)	1	77,8491	0,0004
Erro (Error)	20	4,4123	

TABELA 17A. Concentrações médias de insulina no plasma (ng/ml) nas diferentes dietas, nos dias em relação ao parto (-27 a 27 dias).

TABLE 17A. Average levels of insulin in plasma (ng/ml) for the different diets according to days in relation to calving.

Dias (Days)	Dietas (Diets)						Média (Mean)	EPM
	1	2	3	4	5	6		
-27	0,98	1,73	1,40	1,22	1,16	0,96	1,24	0,06
-25	0,95	1,17	1,29	0,95	1,15	0,98	1,08	0,06
-23	0,98	1,36	1,21	1,25	1,19	0,94	1,15	0,06
-20	1,10	1,13	0,97	1,04	0,94	0,91	1,01	0,06
-18	1,02	1,13	1,02	0,99	1,06	0,81	1,01	0,06
-16	1,15	1,24	0,90	0,95	1,04	0,88	1,03	0,06
-13	1,15	0,73	0,77	1,15	1,07	1,04	0,98	0,06
-9	0,91	0,90	0,89	1,13	0,97	0,93	0,96	0,06
-6	1,09	1,00	0,83	1,71	0,77	0,74	1,02	0,06
-4	1,04	0,98	0,80	1,14	0,84	0,92	0,95	0,06
-2	0,85	1,11	0,81	0,84	0,73	0,67	0,83	0,06
0	0,98	0,96	1,01	1,02	0,58	0,66	0,87	0,06
2	0,93	1,03	1,34	0,64	0,53	0,62	0,85	0,06
4	0,78	0,78	0,62	0,65	0,53	0,63	0,67	0,06
6	0,70	0,73	0,75	0,73	0,82	0,59	0,72	0,06
9	0,84	0,71	0,86	0,66	0,51	0,52	0,68	0,07
11	0,69	0,60	0,76	0,71	0,56	0,59	0,65	0,06
13	0,56	0,68	0,68	0,68	0,56	0,60	0,62	0,06
16	0,58	0,63	0,64	0,90	0,64	0,61	0,68	0,06
18	0,56	0,77	0,73	0,72	0,75	0,61	0,67	0,06
20	0,94	0,84	0,81	0,96	0,69	0,61	0,81	0,06
23	0,76	0,86	0,60	0,76	0,66	0,79	0,74	0,06
25	0,76	0,71	0,56	0,73	0,76	0,76	0,71	0,06
27	1,01	1,01	0,56	0,77	0,60	0,72	0,79	0,06
Média (Mean)	0,89 (0,03)	0,95 (0,03)	0,87 (0,03)	0,93 (0,03)	0,79 (0,03)	0,75 (0,03)	0,85	

TABELA 18A. Resumo da análise da variância para insulina considerando regressão em função dos dias de coleta de sangue em relação ao parto (-27 a 27 dias).

TABLE 18A. Summary of analysis of variance of insulin considering regression in function of the collection blood days in relation to calving (-27 to 27 days).

Fontes de variação (Sources of variation)	G.L. (F.D.)	Insulina (Insulin)	
		Q.M. (M.S.)	P>Fc
Linear (Linear)	1	0,5389	0,0001
Quadrática (Quadratic)	1	0,0613	0,0013
Cúbica (Cubic)	1	0,0274	0,0194
Erro (Error)	20	0,0042	

TABELA 19A. Equações de regressão para insulina em função dos dias em relação ao parto.

TABLE 19A. Regression equations for insulin according to days in relation to calving.

Regressão (Regression)	R ²	Equações de regressão (Regression equations)
Linear (Linear)	0,7565	$Y = 0,8675 - 0,0091X$
Quadrática (Quadratic)	0,8427	$Y = 0,8114 - 0,0091X + 0,0002X^2$
Cúbica (Cubic)	0,8811	$Y = 0,8143 - 0,0141X + 0,0002X^2 + 0,00001X^3$

TABELA 20A. Concentrações médias de proteína no plasma (%) nas diferentes dietas, nos dias em relação ao parto (-27 a 27 dias).

TABLE 20A. Average levels of protein in plasma (%) for diets according to days in relation to calving (from -27 to 27 days).

Dias (Days)	Dietas (Diets)						Média (Mean)	EPM
	1	2	3	4	5	6		
-27	7,03	7,40	6,72	7,01	7,29	6,89	7,06	0,08
-25	7,06	6,90	7,22	7,06	7,26	6,99	7,08	0,08
-23	7,00	6,76	7,12	6,91	6,85	6,98	6,94	0,08
-20	7,09	6,73	6,87	6,56	6,70	6,71	6,77	0,08
-18	7,01	6,80	6,75	6,67	7,10	6,63	6,83	0,08
-16	6,78	6,63	7,03	6,57	6,83	6,63	6,74	0,08
-13	6,99	6,75	6,93	6,79	6,49	6,37	6,72	0,08
-9	6,53	6,68	6,65	6,76	6,18	6,34	6,52	0,08
-6	6,74	6,58	6,52	6,46	6,46	6,21	6,49	0,08
-4	6,30	6,53	6,93	6,51	6,17	6,05	6,41	0,08
-2	6,09	6,38	6,30	6,36	5,96	6,09	6,20	0,08
0	6,16	6,65	6,43	6,25	5,63	5,82	6,16	0,08
2	5,91	6,38	6,45	6,71	6,51	6,62	6,43	0,08
4	6,16	6,58	6,62	6,63	6,35	6,15	6,42	0,08
6	6,29	6,90	6,58	7,23	6,48	6,57	6,67	0,08
9	6,46	7,33	6,45	7,15	6,65	6,53	6,76	0,08
11	6,56	6,94	6,60	7,03	6,73	6,69	6,76	0,08
13	6,94	6,94	7,08	7,27	6,90	6,79	6,99	0,08
16	6,83	6,96	7,10	7,11	7,02	6,97	7,00	0,08
18	7,05	7,11	7,38	7,40	7,26	7,02	7,20	0,08
20	6,94	7,25	7,45	7,53	7,33	6,99	7,25	0,08
23	6,68	7,20	7,30	7,40	7,32	7,41	7,22	0,08
25	7,04	7,36	7,48	7,77	7,40	7,34	7,40	0,08
27	7,08	7,29	7,70	7,96	7,44	7,51	7,49	0,08
Médias (Means)	6,70 (0,04)	6,87 (0,04)	6,90 (0,04)	6,96 (0,04)	6,76 (0,04)	6,68 (0,04)	6,82	

TABELA 21A. Resumo da análise da variância para proteína plasmática considerando regressão em função dos dias de coleta de sangue em relação ao parto (-27 a 27 dias).

TABLE 21A. Summary of analysis of variance of protein considering regression in function of the collection blood days in relation to calving (-27 to 27 days).

Fontes de variação (Sources of variation)	G.L. (D.F.)	Proteína Protein	
		Q.M. M.S.	P>Fc
Linear (Linear)	1	0,436189	0,0113
Quadrática (Quadratic)	1	2,2096	0,0001
Cúbica (Cubic)	1	0,01518	0,3701
Erro(Error)	20	0,0181	

TABELA 22A. Equações de regressão para proteína em função dos dias em relação ao parto.

TABLE 22A. Regression equations for protein according to days in relation to calving:

Regressão (Regression)	R ²	Equações de regressão (Regression equations)
Linear (Linear)	0,1443	$Y = 6,8091 + 0,0082x$
Quadrática (Quadratic)	0,8755	$Y = 6,4726 + 0,0085x + 0,0012x^2$
Cúbica (Cubic)	0,7858	$Y = 6,4704 + 0,0123x + 0,0013x^2 - 7,6198x^3$

TABELA 23A. Concentrações médias de ácidos não esterificados (AGNE) no plasma (ng/ml) nas diferentes dietas, nos dias em relação ao parto (-27 a 27 dias).

TABLE 23A. Average levels of non esterified fatty acids (NEFA) in plasma (ng/ml) for the different diets, according to days in relation to calving.

Dias (Days)	Dietas (Diets)						Médias (Means)
	1	2	3	4	5	6	
-27	116,74	170,00	134,72	100,95	129,12	121,65	128,86
-25	123,58	238,99	109,37	79,96	143,67	89,42	130,83
-23	179,54	109,03	150,80	100,10	119,59	361,22	170,05
-20	130,25	152,48	148,99	90,56	117,18	124,90	127,39
-18	152,44	179,02	103,56	105,76	127,39	96,13	127,38
-16	207,58	121,49	107,99	84,85	155,17	103,42	130,08
-13	144,51	113,41	142,71	105,66	151,60	131,23	131,52
-9	183,82	115,22	102,81	135,40	228,29	125,45	148,49
-6	270,34	145,00	130,48	143,72	141,82	137,37	161,46
-4	198,49	147,96	89,55	141,23	196,23	134,36	151,30
-2	246,25	195,58	139,29	205,74	323,52	209,32	219,95
0	588,49	219,26	372,35	400,24	365,70	308,14	487,20
2	376,65	375,38	372,66	407,95	893,32	528,58	492,42
4	586,21	281,05	482,18	448,60	820,04	578,70	532,80
6	769,67	398,05	371,44	382,40	666,61	633,90	537,10
9	484,08	344,19	353,06	417,73	713,41	610,73	487,20
11	452,98	310,03	367,98	407,15	710,00	721,36	494,92
13	424,52	363,18	333,29	440,38	600,15	404,83	427,73
16	652,17	362,95	392,79	447,25	574,36	474,06	483,93
18	361,85	222,06	277,15	411,04	611,78	383,22	377,85
20	365,16	268,86	355,76	354,97	544,85	494,88	397,41
23	318,02	276,84	330,21	388,13	448,87	376,61	356,44
25	280,19	562,37	372,53	310,11	516,79	292,99	389,16
27	341,31	212,31	323,78	230,01	513,71	494,34	352,58
Média (Means)	331,45	245,20	252,73	264,16	408,88	330,70	317,01

TABELA 24A. Resumo da análise da variância para ácido graxo não esterificado (AGNE) considerando regressão em função dos dias de coleta de sangue em relação ao parto (-27 a 27 dias).

TABLE 24A. Summary of analysis of variance of non-esterified fatty acids (NEFA) considering regression in function of the collection blood days in relation to calving (-27 to 27 days).

Fontes de variação (Sources of variation)	G.L. (F.D.)	AGNE (NEFA)	
		Q.M. (M.S.)	P>Fc
Linear (Linear)	1	323070	0,0001
Quadrática (Quadratic)	1	37967	0,0186
Cúbica (Cubic)	1	102212	0,0003
Erro (Error)	20	5204,24	

TABELA 25A. Equações de regressão para ácido graxo não esterificado (AGNE) em função dos dias em relação ao parto.

TABLE 25A. Regression equations for non-esterified fatty acids (NEFA) according to days in relation to calving:

Regressão (Regression)	R ²	Equações de regressão (Regression equations)
Linear (Linear)	0,5695	$Y = 302,2764 + 7,0751x$
Quadrática (Quadratic)	0,5202	$Y = 346,3919 + 7,0338x - 0,1639x^2$
Cúbica (Cubic)	0,7003	$Y = 340,8082 + 16,6938x - 0,1555x^2 - 0,0198x^3$

TABELA 26A. Resumo da análise de variância da produção de leite em função das dietas, dias e estações.

TABLE 26A. Summary of analysis of variance of milk production in relation with diets, days and seasons.

Fontes de variação (Sources of variation)	G.L. (F.D.)	Produção de leite Milk production	
		Q.M. M.S.	P>Fc
Dietas (D) (Diets (D))	5	7843,5603	0,0497
Estação(E) (Seasons)(S)	1	7695,7652	0,1240
D * E (D * S)	5	1030,6326	0,8863
Erro A (Error A)	28	3060,6164	0,0001
Semana (S) (Week (W))	21	4154,1212	0,0001
D* S (D * W)	105	260,5619	0,0001
E * S (S * W)	21	312,8472	0,0001
D * E* S (D * S * W)	105	141,4423	0,0001
Erro (Error)	2274	33,1667	
Total Corrigido (Corrected Total)	2421		
Média geral (General Mean)		32,2680	
CV (%)		17,8476	

TABELA 27A. Resumo da análise da variância para produção do leite corrigida para gordura considerando contraste entre as dietas.

TABLE 27A. Summary of analyses of variance of milk production corrected to fat, considering contrast between diets.

Fontes de variação (Sources of variation)	G.L. (F.D.)	Produção de leite (Milk production)	
		Q.M. (M.S.)	P>Fc
Dietas (D) (Diets (D))	5	7915,6475	0,0001
Estações (E) (Seasons (S))	1	7552,7803	0,0001
D *E (D * S)	5	601,0600	0,0001
Erro (Error)	2410	94,21493	
Total Corrigido (Corrected Total)	2421		
Média Geral (General Mean)		32,2680	
CV		30,0807	

TABELA 28A. Contrastes ortogonais da produção de leite em função das dietas.

TABLE 28A. Orthogonal contrasts between milk production in function of diets.

Contraste Contrast	G.L. (D.F.)	Produção de leite Milk production	
		Q.M. M.S.	P>Fc
1 vs 2	1	3402,1049	0,0001
5 vs 6	1	5054,7553	0,0001
1 e 2 vs 5 e 6	1	11468,7005	0,0001
3 vs 4	1	167,2812	0,1828
3 , 4 vs 1, 2, 5, 6	1	13520,0914	0,0001

TABELA 29A. Resumo da análise da variância para produção de leite, considerando regressão em função das semanas, fixando-se dietas e estações.

TABLE 29A. Summary of analysis of variance of milk production considering regression in function of weeks, fixing days and seasons:

FV (V/S)	GL (FD)	Quadrados médios de produção											
		Estação 1 Season 1						Estação 2 Season 2					
		1		2		3		4		5		6	
RL (LR)	1	40,4376**	7,6462**	40,7262**	0,0211	1,0105	1,4311	0,0146	0,0503	0,3464	9,8708**	1,0105	13,2546**
RQ (QR)	1	1,6038	4,9803*	0,0070	0,4496	0,7691	1,0901	1,2924	1,4690	0,6655	1,7687	0,7691	5,3020*
RC (CR)	1	0,1223	1,2771	4,0790	1,3698	1,7003	2,4102	0,7457	2,1503	0,0013	0,1506	1,7003	2,3063
DESVIO (ERROR)	6	0,5720	0,1712	0,2588	0,0711	0,1161	0,1161	0,1919	0,1695	0,0372	0,0309	0,1161	0,4837
ERRO (ERROR)	901	1,0883	1,0883	1,0883	1,0883	1,0883	1,0883	1,0883	1,0883	1,0883	1,0883	1,0883	1,0883

** P<0,01 *P<0,05

