



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA**

JOÃO PEDRO ANDRADE REZENDE

**COMPOSIÇÃO E RITMO CIRCANUAL DO LEITE EM
AMOSTRAS DE FAZENDAS BRASILEIRAS**

LAVRAS – MG

2022

JOÃO PEDRO ANDRADE REZENDE

**COMPOSIÇÃO E RITMO CIRCANUAL DO LEITE EM
AMOSTRAS DE FAZENDAS BRASILEIRAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção de Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

Profª. Dra. Marina de Arruda Camargo Danes
Orientadora

LAVRAS – MG

2022

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

Rezende, João Pedro Andrade.

Composição e ritmo circanual do leite em amostras de fazendas
brasileiras / João Pedro Andrade Rezende. - 2022.

86 p.: il.

Orientador(a): Marina de Arruda Camargo Danes.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Teor de gordura do leite. 2. Teor de proteína do leite. 3.
Nutrição de precisão. I. Danes, Marina de Arruda Camargo. II.
Título.

JOÃO PEDRO ANDRADE REZENDE

**COMPOSIÇÃO E RITMO CIRCANUAL DO LEITE EM AMOSTRAS DE
FAZENDAS BRASILEIRAS**

**COMPOSITION AND CIRCANUAL RHYTHM OF MILK IN SAMPLES FROM
BRAZILIAN FARMS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção de Ruminantes, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 11 de fevereiro de 2022.

Dra. Marina de Arruda Camargo Danes, Universidade Federal de Lavras

Dr. Alexandre Mendonça Pedroso, Cargill Nutrição Animal

Dr. Marcos Neves Pereira, Universidade Federal de Lavras

Dr. Paulo Fernando Machado, Instituto Clínica do Leite



Prof (a). Dr (a). Marina de Arruda Camargo Danes
Orientadora

**LAVRAS – MG
2022**

*Ao meu querido avô Delcio (Im
Memoriam), dedico todo o esforço
que depositei neste trabalho.*

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, agradeço a Deus pela minha vida.

Aos meus pais, Kleber e Adriana, pelo exemplo de caráter e dignidade, além de todo o esforço investido em minha formação, desde a infância. Ao meu irmão Francisco, pela parceria e confiança.

À minha namorada Aline, por todo o apoio prestado e todos os momentos compartilhados. Por me fazer acreditar sempre.

À professora Marina, pela amizade, por ser um grande exemplo e por todas as oportunidades de desenvolvimento profissional e pessoal criadas durante o mestrado.

Ao professor Marcos, por todos os ensinamentos transmitidos, desde a época da graduação. Ao professor Paulo e ao Augusto, pela oportunidade de trabalhar em parceria com o Instituto Clínica do Leite, o que me fez aprender imensamente. Ao Alexandre, por prontamente aceitar fazer parte da banca examinadora.

A todos os meus amigos, especialmente à turma do UFLALEITE e INPPAR, pela convivência e toda a ajuda durante a condução deste trabalho. À República Chumbo Quente, minha família em Lavras, e à República Gato Preto, que me acolheu tão bem em Piracicaba.

À Universidade Federal de Lavras, especialmente ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, pela valiosíssima oportunidade.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, pela bolsa de estudos concedida.

“It’s a moral obligation to pursue what you find meaningful”. (Jordan Peterson)

RESUMO

O teor de sólidos do leite ganha importância no Brasil, como critério de definição de preço de leite e/ou como ferramenta nutricional. Assim, os objetivos deste trabalho foram: 1) verificar a evolução temporal nos teores de gordura e proteína bruta do leite (PBL) no país; 2) quantificar um ritmo anual nestes mesmos componentes e 3) observar se problemas de manejo nutricional podem ser detectados com análise de leite individual. Para os objetivos 1 e 2, dois bancos de dados foram analisados. O primeiro banco de dados, extraído do Observatório da Qualidade do Leite, continha os teores de gordura e PBL mensais do leite de tanque dos seis maiores estados produtores do país, de 2013 a 2020. O segundo banco de dados foi obtido com o Instituto Clínica do Leite e continha resultados de análise de leite individual de 261 fazendas, de 2017 a 2020, localizadas majoritariamente em Minas Gerais (MG) e São Paulo (SP). Para atingir o objetivo 1, as médias de mínimos quadrados (MMQ) anuais para teor de gordura e PBL do leite de tanque e individual foram calculadas e comparadas com o teste Tukey ($P \leq 0,05$). Para os dados de leite de tanque, houve evolução apenas na região Sul, onde a PBL aumentou em média 0,07 pontos percentuais, de 2017 a 2020. Para os dados de leite individual, em MG os teores de gordura (3,47 vs. 3,65%) e PBL (3,33 vs. 3,40%) aumentaram, enquanto em SP apenas os teores de PBL (3,32 vs. 3,44%) aumentaram. Para o objetivo 2, as MMQ mensais para teor de gordura e PBL foram calculadas e ajustadas a uma forma linear da função cosseno a cada período de 12 meses, aplicando a técnica cosinor, frequentemente usada em análises de ritmo. Para todos os estados, para leite de tanque e individual, o ajuste da cosinor foi significativo ($P < 0,001$) e melhor que o ajuste linear, quadrático ou cúbico para mês do ano. Os maiores teores de gordura do leite ocorreram em maio, sendo a diferença média entre o maior e menor valor observado ao longo do ano de 0,35 unidades percentuais. Os maiores teores de PBL ocorreram em maio e junho, sendo a diferença média entre o maior e menor valor observado ao longo do ano de 0,19 unidades percentuais. Estes resultados demonstram a existência de um ritmo biológico circanual nos teores de sólidos do leite produzido no Brasil. Para atingir o objetivo 3, dois lotes de vacas em lactação, confinadas e alimentadas com dieta total misturada (TMR), foram monitorados por sete meses. A cada 18 dias, foram coletadas a produção e composição do leite individual, consumo de matéria seca do lote (CMS), amostras de TMR e sobras, avaliação da distribuição de partículas, qualidade de mistura e seleção, utilizando as peneiras Penn State e escore de ruminação. As observações por lote foram divididas em três grupos, adotando teor de gordura ou PBL como critério de divisão. As MMQ para todas as variáveis coletadas foram geradas, tendo grupo como efeito fixo e lote como efeito aleatório no modelo estatístico e comparadas pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$; tendência $P \leq 0,10$). Entre grupos por gordura do leite, diferenças foram encontradas em proporção de partículas de 8 a 19 mm e escore de ruminação, enquanto tendências foram observadas para extrato etéreo, fibra insolúvel em detergente neutro fisicamente efetiva e seleção contra partículas > 19 mm. Entre grupos por PBL, diferiram proporção de partículas de 8 a 19 mm, seleção contra partículas > 8 mm e a favor de partículas do fundo, além de uma tendência para coeficiente de variação (CV) de 8 mm.

Palavras-chave: Teor de gordura do leite; teor de proteína do leite; nutrição de precisão.

ABSTRACT

The milk solids content is gaining importance in Brazil, as a criterion for defining milk prices and/or as a nutritional tool. Thus, the objectives of this work were: 1) to verify the temporal evolution in the contents of milk fat and crude protein (CP) in the country; 2) to quantify an annual rhythm in these same components and 3) to observe if problems in nutritional management can be detected with analysis of individual milk. In the objectives 1 and 2, two databases were analyzed. The first database, extracted from the Observatório de Qualidade do Leite, contained the monthly fat and CP contents of bulk tank milk from the six largest producing states in the country, from 2013 to 2020. The second database was obtained from Instituto Clínica do Leite and contained results of individual milk analysis from 261 farms, from 2017 to 2020, located mostly in Minas Gerais (MG) and São Paulo (SP). To achieve objective 1, annual least squares means (LSM) for fat content and CP of tank and individual milk were calculated and compared using the Tukey test ($P \leq 0.05$). For tank milk data, there was an evolution only in the South region, where CP increased by an average of 0.07 percentage points, from 2017 to 2020. For individual milk data, in MG the fat contents (3.47 vs. 3.65%) and CP (3.33 vs. 3.40%) increased, while in SP only CP content (3.32 vs. 3.44%) increased. For objective 2, monthly LSM for fat and CP content were calculated and adjusted to a linear form of the cosine function every 12 months, applying the cosinor technique, often used in rhythm analyses. For all states, for bulk tank and individual milk, the cosinor fit was significant ($P < 0.001$) and better than the linear, quadratic or cubic fit for month of the year. The highest levels of milk fat occurred in May, with the average difference between the highest and lowest values observed throughout the year being 0.35 percentage units. The highest levels of CP occurred in May and June, with the average difference between the highest and lowest values observed throughout the year being 0.19 percentage units. These results demonstrate the existence of a circannual biological rhythm in the solid contents of milk produced in Brazil. To achieve objective 3, two pens of lactating cows, confined and fed a total mixed diet (TMR), were monitored for seven months. Every 18 days, individual milk production and composition; pen dry matter intake; TMR and leftovers samples; particle distribution evaluation, mixing quality and sorting using Penn State sieves and rumination score were collected. The observations per pen were divided into three groups, adopting fat or CP content as the division criterion. The LSM for all variables collected were generated, having group as fixed effect and pen as random effect in the statistical model, and compared using the Tukey test ($P \leq 0.05$; trend $P \leq 0.10$). Between groups by milk fat, differences were the proportion of particles from 8 to 19 mm and rumination score, while trends were observed for ether extract, physically effective neutral detergent insoluble fiber and selection against particles > 19 mm. Among groups by CP, the proportion of particles from 8 to 19 mm, sorting against particles > 8 mm and in favor of particles from the bottom differed, in addition to a tendency for a coefficient of variation (CV) in the 8 mm sieve.

Keywords: Milk fat content, milk protein content, precision nutrition.

Evolução dos teores de gordura e proteína bruta do leite produzido no Brasil



- Considerando o leite de tanque, uma leve evolução foi observada apenas para **teor de proteína na região Sul**
- Considerando o leite individual, as fazendas **evoluíram em teor de gordura, proteína e caseína**

Ritmos anuais no teores de gordura e proteína do leite no Brasil



- Foi possível **quantificar um ritmo biológico circanual** nos teores de **gordura e proteína** do leite de tanque e individual no Brasil

Teores de gordura e proteína bruta do leite individual como ferramenta nutricional

Maiores teores de gordura estiveram associados a:

- > Proporção de partículas de 8 a 19 mm
- > Escore de ruminação

> Teor de FDNfe e menor teor de EE na dieta

< Seleção contra partículas > 19 mm

Maiores teores de proteína estiveram associados a:

- > Proporção de partículas de 8 a 19 mm
- < Seleção contra partículas > 8 mm

< Seleção a favor de partículas do fundo

< CV para a peneira de 8mm

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 Produção e composição do leite no Brasil	14
2.2 Síntese de sólidos do leite	15
2.2.1 Síntese de gordura do leite	15
2.2.2 Síntese de proteína do leite	17
2.2.3 Síntese de lactose.....	19
2.3 Fatores não nutricionais que afetam o teor de sólidos do leite	20
2.3.1 Raças e nível de produção	20
2.3.2 Genética	21
2.3.3 Dias em lactação	23
2.3.4 Ritmo biológico circanual	24
2.3.5 Estresse térmico.....	25
2.3.6 Mastite e contagem de células somáticas	28
2.4 Fatores nutricionais que afetam o teor de sólidos do leite.....	29
2.4.1 Nutrição e gordura do leite.....	29
2.4.2 Nutrição e proteína do leite.....	31
2.4.3 Nutrição e nitrogênio ureico do leite.....	34
REFERÊNCIAS.....	36
ARTIGO 1 – EVOLUÇÃO DOS TEORES DE GORDURA E PROTEÍNA BRUTA DO LEITE PRODUZIDO NO BRASIL.....	43
1. INTRODUÇÃO	43
2. MATERIAL E MÉTODOS	44
2.1 Avaliação dos dados de leite de tanque	44
2.2 Avaliação dos dados de leite individual.....	44
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
3.1 Evolução dos teores de gordura e proteína bruta do leite de tanque	45
3.2 Evolução da composição de leite individual	46
4. CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS.....	49
ARTICLE 2 – ANNUAL RHYTHMS OF MILK FAT AND PROTEIN CONTENTS IN BRAZIL	57
1. INTRODUCTION	57
2. MATERIAL AND METHODS	58
3. RESULTS	59
4. DISCUSSION.....	60

5. CONCLUSION	62
REFERENCES	63
ARTIGO 3 – TEORES DE GORDURA E PROTEÍNA BRUTA DO LEITE INDIVIDUAL COMO FERRAMENTA DE MONITORAMENTO NUTRICIONAL.....	67
1. INTRODUÇÃO	67
2. MATERIAL E MÉTODOS	68
2.1 Local do experimento e duração.....	68
2.2 Mensurações, manejo alimentar e procedimentos analíticos	68
2.3 Análise estatística	70
3. RESULTADOS	70
4. DISCUSSÃO	73
5. CONCLUSÃO	77
REFERÊNCIAS.....	78

1. INTRODUÇÃO

Historicamente, o teor de sólidos do leite é pouco valorizado no Brasil. Contudo, apesar do critério mais importante na definição do preço do leite pago ao produtor continuar sendo o volume produzido, existem indícios que a cadeia leiteira passa por um momento de transformação, em que a qualidade do leite ganha destaque. Alguns laticínios já bonificam significativamente (até 30 centavos por litro) a redução da contagem bacteriana total (CBT), contagem de células somáticas (CCS) e o aumento dos teores de gordura e proteína (CARVALHO *et al.*, 2021). Este sistema de pagamento parece fazer sentido econômico, uma vez que cerca de 60% do leite captado pela indústria no país é destinado a produção de queijos e leite em pó (SIQUEIRA, 2019), ambos processos dependentes de altos teores de gordura e proteína do leite para maior rendimento e lucratividade. No entanto, não está claro se esta tendência na valorização do teor de sólidos do leite tem sido percebida pelos produtores e traduzida em melhorias na composição do leite a nível nacional, uma vez que não existem análises da evolução dos teores de sólidos do leite brasileiro disponíveis na literatura.

Paralelamente, devido à preocupação crescente em aumentar a precisão na formulação de dietas e qualidade do manejo alimentar, a análise de leite individual ganha espaço como ferramenta de monitoramento nutricional, por ser uma forma de coletar dados não invasiva, de relativo baixo custo e fácil acesso. Apesar destas vantagens, a utilização da composição do leite individual como ferramenta de manejo nutricional é ainda subutilizada por fazendas brasileiras. No banco de dados explorado neste projeto, pertencente ao maior laboratório de análise de leite brasileiro (Instituto Clínica do Leite – Piracicaba, São Paulo), apenas 30 a 40% dos produtores que realizam análise individual para CCS mensalmente também solicitam análise de sólidos e nitrogênio ureico do leite (NUL).

Parte desta baixa utilização pode ser explicada pela falta de clareza dos resultados esperados para a composição do leite, tendo em vista o histórico brasileiro de baixa valorização do teor de sólidos. Além disso, como diversos fatores não nutricionais também afetam a composição do leite, utilizar a informação obtida pela análise de leite individual na formulação de dietas e na avaliação do manejo nutricional pode ser complexo. Um dos principais fatores não nutricionais que influencia os resultados da composição do leite é a ocorrência de um ritmo biológico circanual, recentemente demonstrado no hemisfério norte (SALFER *et al.*, 2019; SALFER *et al.*, 2020), mas ainda não estudado no hemisfério sul.

Tendo em mente a aparente crescente valorização dos sólidos do leite por parte da indústria, a preocupação em aumentar a precisão da nutrição dos animais e o crescente interesse em monitoramento individual, os objetivos deste trabalho foram: 1) verificar se houve evolução nos teores de sólidos do leite de tanque (2013 a 2020 em Minas Gerais, São Paulo, Goiás, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul) e leite individual (2017 a 2020, em Minas Gerais e São Paulo); 2) estudar a existência de um ritmo biológico circanual na composição do leite produzido no Brasil, permitindo uma melhor interpretação dos resultados obtidos pelas fazendas; 3) simular a atuação prática de um nutricionista e observar se problemas de manejo e manipulações nutricionais podem ser detectados com a análise de leite individual

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Produção e composição do leite no Brasil

O Brasil é o terceiro maior produtor de leite do mundo, produzindo menos apenas que Estados Unidos e Índia (FAO, 2019). Em 2019, o valor da produção primária de leite atingiu quase R\$ 35 bilhões, ressaltando a importância da atividade para o agronegócio no país (BRASIL, 2019), tanto na geração de renda como na criação de empregos (ZOCCAL, 2018).

Apesar de sua grande importância econômica e social, dados do IBGE citados por CARVALHO (2021) mostram que a produção de leite total no país está relativamente estável desde 2012. De 2013 a 2020, o crescimento da produção foi de apenas 0,5% ao ano, enquanto de 2000 a 2013 o crescimento médio anual foi de 4,3% (CARVALHO, 2021). O crescimento expressivo da produção de leite observado de 2000 a 2013 é explicado por um aumento no consumo interno de lácteos (estagnado desde 2014), uma vez que o país é importador de leite (IBGE, 2017; CARVALHO, 2021).

Adicionalmente, os dados apresentados no último Censo Agropecuário do IBGE (2017) mostraram o baixo nível tecnológico do produtor médio no país: existiam 1,176 milhão de produtores, com produção média de apenas 2069 litros por vaca/ano e a fração de mercado grande que ainda é informal (28%). No entanto, o mesmo Censo sugere que a cadeia leiteira passa por um momento de transformação: ao longo do tempo ocorreu aumento da escala de produção das fazendas monitoradas, com maior produtividade de vacas, terra e mão de obra.

No mesmo sentido, CARVALHO (2021) mostra que, apesar da estagnação na produção total vivenciada na cadeia desde 2013, mudanças estruturais estão acontecendo na produção de leite. Em um levantamento realizado nos principais laticínios do país (CARVALHO, 2021), foi constatado o expressivo aumento do volume de leite captado que é proveniente de confinamentos (16% em 2019 vs. 35% em 2021), apesar da pequena diferença na quantidade de produtores que utilizam este sistema de produção (3,6% em 2019 vs. 6,5% em 2021).

Este cenário indica que a atividade leiteira se torna cada vez mais competitiva e profissional, mas ainda com um enorme potencial de evolução. Com a maior profissionalização da atividade e o advento das Instruções Normativas 76 e 77 (BRASIL, 2018), aumentam-se as exigências por qualidade do leite e o teor de sólidos produzido começa a ter maior impacto nos preços pagos ao produtor (CARVALHO *et al.*, 2021).

2.2 Síntese de sólidos do leite

O leite pode ser caracterizado como uma emulsão de glóbulos de gordura e vitaminas lipossolúveis, suspensão coloidal de micelas de caseína e solução de lactose, proteína solúveis em água, sais minerais e vitaminas hidrossolúveis (SANTOS e FONSECA, 2019).

Estes componentes do leite são sintetizados pela glândula mamária a partir de precursores absorvidos do sangue. Os precursores entram na célula epitelial mamária através da membrana basal, são modificados (quando necessário), transformados em gordura, proteína ou lactose e excretados, através da membrana apical da célula, para o lúmen do alvéolo (FOX e MCSWEENEY, 2015).

2.2.1 Síntese de gordura do leite

A gordura é o principal componente energético do leite, responsável por muitas das suas propriedades físicas, características industriais e qualidades organolépticas. O teor de gordura do leite afeta o rendimento industrial de vários produtos lácteos, como manteiga, requeijão e sorvetes (FOX e MCSWEENEY, 2015).

Aproximadamente 98% da porção lipídica do leite é formada por triacilgliceróis (NEVILLE e PICCIANO, 1997), que por sua vez são formados por três ácidos graxos (AG) e um glicerol. Mais de 400 AG já foram identificados no leite bovino, sendo cerca de 20 os principais (JENSEN *et al.*, 2002).

Os AG do leite podem ser agrupados em três categorias: de novo (C4 a C14), pré-formados (>C18:0) e de origem mista (C16:0 e C16:1) (BARBANO, 2018). Os AG de novo são sintetizados pela glândula mamária, enquanto os pré-formados são obtidos via dieta ou da mobilização de reservas corporais, dependendo do balanço energético da vaca. Os de origem mista podem ser pré-formados ou de novo, sendo que aproximadamente 40 a 50% de C16:0 advém de síntese de novo (LOFTEN *et al.*, 2014).

A síntese de novo de AG pela glândula mamária de ruminantes tem como principal substrato o acetato, produzido na fermentação ruminal de carboidratos, além de β -hidroxibutirato, produzido pelo epitélio ruminal após absorção de butirato, também resultado do processo de fermentação (BAUMAN, 2003; HARVATINE *et al.*, 2009). Dezesete a 45% da gordura do leite advém de acetato, enquanto 8 a 25% é sintetizada a partir de β -hidroxibutirato (SANTOS e FONSECA, 2019). Este processo também demanda glicose, obtida

em maior parte pela metabolização de propionato pelo fígado, que é convertida em cofatores e agentes redutores (VERNON e FLINT, 1983).

As duas enzimas chaves envolvidas na síntese de novo de AG são acetil-CoA carboxilase e AG sintetase. A acetil-CoA carboxilase, responsável pelo primeiro passo e limitante da velocidade do processo, catalisa a produção de malonil-CoA a partir de acetil-CoA (HA *et al.*, 1994). Após o primeiro passo, o complexo enzimático AG sintetase catalisa uma série de sete reações, em que cada uma adiciona dois carbonos à cadeia de AG (SMITH, 1994). Por fim, enzimas acil-tioesterases cortam o crescimento da cadeia, que tem limite máximo de 16 carbonos (NEVILLE e PICCIANO, 1997).

Os AG pré-formados são captados pela glândula mamária e incorporados no leite, derivados de lipoproteínas e ácidos graxos não esterificados (AGNE) circulantes, que vêm da absorção de lipídeos no trato digestivo e mobilização de reservas corporais, respectivamente (BARBER *et al.*, 1997). Tipicamente, em ruminantes, lipólise e mobilização de reservas corporais contribuem com menos que 10% dos AG da gordura do leite. Contudo, quando as vacas estão em balanço energético negativo, condição comum no início da lactação (BELL, 1995; GRUMMER, 1995), a contribuição de AG que vêm da mobilização de reservas corporais aumenta em proporção direta ao tamanho do déficit energético (BAUMAN e GRIINARI, 2001).

A entrada de AG pré-formados no citosol da célula epitelial mamária depende da hidrólise dos triacilgliceróis circulantes, realizada pelas lipoproteínas lipases, presentes nos capilares sanguíneos que irrigam a glândula mamária (NEVILLE e PICCIANO, 1997). Os AG de novo e pré-formados, quando disponíveis no citosol, são ligados à uma lipoproteína (lipoproteína ligante de ácidos graxos) ou ativados para a síntese de triacilglicerol, que ocorre na superfície externa do retículo endoplasmático liso, onde estão presentes as enzimas responsáveis pela esterificação ou reesterificação destes AG (NEVILLE e PICCIANO, 1997). Formam-se então microgotículas de gordura, que são transportadas para a membrana apical da célula. As gotas de gordura são transformadas em glóbulos de gordura quando secretadas para o lúmen alveolar, envelopadas por proteínas da membrana apical da célula mamária (HURLEY e MORIN, 2003).

2.2.2 Síntese de proteína do leite

A proteína do leite tem grande importância para a indústria leiteira, por afetar diretamente a eficiência da fabricação de queijos e outros produtos lácteos. O consumo de proteína do leite por humanos está associado a diversos benefícios para a saúde, uma vez que este componente possui todos os aminoácidos essenciais (AAE) em boas concentrações e alta digestibilidade. Além disso, peptídeos bioativos presentes no leite parecem ter uma importante função antimicrobiana, reduzir o risco de hipertensão e afetar positivamente o sistema imune (IBRAHIM *et al.*, 2017).

No Brasil, a proteína do leite é normalmente medida como proteína bruta. Aproximadamente 95% da proteína bruta do leite é proteína verdadeira (polímeros de aminoácidos), sendo o restante nitrogênio não proteico (NNP) (ureia, creatina e creatinina, principalmente) (DEPETERS e FERGUSON, 1992). Da proteína verdadeira, aproximadamente 80% corresponde à caseína, principal proteína do leite, enquanto os 20% restantes são compostos por proteínas do soro (HURLEY e MORIN, 2003).

As caseínas do leite são: α S1-caseína, α S2-caseína, β -caseína e κ -caseína, presentes nas micelas em proporções de 4:1:4:1, respectivamente. As caseínas α e β são multifosforiladas, enquanto a κ -caseína é glicosilada e tem a função de estabilizar a micela (HURLEY e MORIN, 2003). O principal interesse econômico na proteína do leite está nesta fração, uma vez que a quantidade de caseína no leite determina o rendimento da produção de queijos (COULONS, 1998).

Já as proteínas do soro são: β -lactoglobulina, α -lactalbumina, albumina, lactoferrina, imunoglobulinas e lactoperoxidase. As duas principais são β -lactoglobulina (corresponde a cerca de 50% do total de proteínas do soro) e lactalbumina (corresponde a 25%, tendo importante função na síntese de lactose) (FOX e MCSWEENEY, 1998). As demais proteínas do soro desempenham funções antimicrobianas (HURLEY e MORIN, 2003).

Todas as caseínas do leite são sintetizadas pela célula epitelial mamária a partir de AA absorvidos do sangue. Das principais proteínas do soro, β -lactoglobulina e α -lactalbumina são sintetizadas na glândula mamária, enquanto albumina e imunoglobulinas chegam pré-formadas do sangue (SANTOS e FONSECA, 2019).

A composição do leite em AA é praticamente constante sob diferentes condições animais e nutricionais (FEATHERSTON *et al.*, 1964). Os AA chegam às células epiteliais mamárias pelos capilares sanguíneos e são transportados através da membrana basal, entrando

na célula. Existem transportadores específicos para grupos de AA diferentes. Por exemplo, o AA essencial (AAE) metionina entra principalmente via transportador LAT1, mas também pode entrar na célula através do transportador ASCT (BAUMRUCKER, 1985). Transportadores de AA podem, inclusive, atuar como sensores das concentrações de AA no meio extra e intracelular, regulando de forma indireta a síntese proteica (TAYLOR, 2014). Contudo, SHENNAN e BOYD (2014) discutem, em uma revisão relativamente recente, que o conhecimento atual da estrutura, função e afinidade dos transportadores de AA é limitado. De fato, estudar este tópico ainda é um grande desafio, devido aos diferentes tipos de sistema de transporte que existem e às possíveis interações entre transportadores (OSORIO *et al.*, 2016).

Os AA, após entrarem na célula, são direcionados ao retículo endoplasmático rugoso, onde são polimerizados. A tradução do RNAm, que determina qual a proteína que será formada, acontece mais especificamente nos ribossomos (HURLEY e MORIN, 2003). Os polímeros de aminoácidos formados são transferidos em pequenas vesículas ao aparato de Golgi, onde sofrem fosforilação (parte das caseínas são fosforiladas) e glicosilação (parte das caseínas e proteínas do soro são glicosiladas). Neste ponto, as micelas de caseína começam a se formar. Este processo continua ocorrendo nas vesículas secretoras, veículo que secreta as proteínas para o lúmen, através da membrana apical da célula. Estima-se que o leite contenha 6×10^{14} micelas de caseína por mL (HURLEY e MORIN, 2003).

A síntese proteica depende da disponibilidade de energia e AA para a célula, além do status hormonal do animal. Em um organismo animal, a síntese proteica é o segundo processo com maior gasto energético, depois apenas do transporte iônico (OSORIO *et al.*, 2016). Em mamíferos, a quantidade da energia total que é consumida apenas com a manutenção de proteínas é de 10% (BIONAZ *et al.*, 2013). Com o início da lactação, o consumo de energia para a síntese proteica pela glândula mamária aumenta 5 vezes, enquanto a tradução de RNAm aumenta em 4 a 7 vezes (BIONAZ *et al.*, 2013).

Por sua vez, os AA são os blocos de construção da proteína, além de possuírem importantes funções de sinalização celular, afetando diretamente a expressão de genes associados à síntese proteica (PALII *et al.*, 2009). Integrando os efeitos de energia, AA e status hormonal (insulina e IGF-1, principalmente) na síntese de proteína, está a quinase mTORC1 (*mammalian target of rapamycin complex 1*). Esta quinase possui papel central no controle da tradução proteica em mamíferos e ajuda a explicar a complexidade deste processo (WANG e PROUD, 2006).

A mTOR pode ser ativada por fosforilação, por duas rotas: via AKT (APPUHAMY *et al.*, 2011) ou AMPK (HARDIE, 2004). A via AKT é ativada por insulina e IGF-1 (BELLACOSA *et al.*, 1998), enquanto a via AMPK depende do status energético (ATP/ADP) da célula e inibe a fosforilação de mTOR quando a célula enfrenta estresse energético (KUDCHODKAR *et al.*, 2007), já que a síntese proteica consome energia (LOBLEY *et al.*, 1990). Aminoácidos essenciais também afetam o estado de fosforilação de mTOR em células da glândula mamária e podem aumentar a síntese de caseína (APPUHAMY *et al.*, 2012). Por outro lado, a síntese proteica pode ser inibida quando existem condições estressantes (estresse térmico e/ou estresse oxidativo, por exemplo), possivelmente pelo gasto de AA para outras funções (GAO *et al.*, 2021) e/ou através de um mecanismo chamado de resposta integrada ao estresse (ISR) (HARDING *et al.*, 2003; WAY e POPKO, 2016).

2.2.3 Síntese de lactose

A lactose é o maior sólido e principal carboidrato do leite (FOX *et al.*, 2015). Apesar de ser tradicionalmente considerada uma característica pouco informativa e de baixíssima variabilidade, diversos trabalhos relacionam negativamente a contagem de células somáticas (CCS) com o teor de lactose (COSTA *et al.*, 2019). Além disso, este carboidrato é responsável pela manutenção do equilíbrio osmótico entre sangue e alvéolos na glândula mamária (COSTA *et al.*, 2019). Isso faz com que a quantidade de lactose determine a quantidade de água absorvida nos alvéolos, já que é necessário manter a pressão osmótica entre sangue e leite, afetando diretamente o volume de leite produzido (FOX *et al.*, 2015). Cada micrograma de lactose arrasta aproximadamente 10 vezes o seu peso em água para os alvéolos (SANTOS e FONSECA, 2019).

A lactose é sintetizada pela célula epitelial mamária a partir de glicose absorvida do sangue, através da membrana basal (OSORIO *et al.*, 2016). Aproximadamente 20% da glicose circulante no sangue de uma vaca leiteira é convertida em glicose durante a lactação (CANT *et al.*, 2002; RIGOUT *et al.*, 2002) e a maior parte desta glicose tem origem na metabolização de propionato pelo fígado, quando a vaca se encontra em balanço energético positivo (ALLEN, 2009). A captação de glicose do sangue pela glândula mamária é regulada por transportadores facilitadores de glicose (GLUT) e também por transporte dependente de sódio (OSORIO *et al.*, 2016). Após a translocação para dentro da célula, parte da glicose é absorvida diretamente pelo aparato de Golgi, sendo parte epimerizada à galactose, que também é absorvida. No aparato de Golgi, a lactose sintase, enzima formada por galactosiltransferase e lactalbumina, sintetiza lactose a partir de glicose e galactose (HURLEY e MORIN, 2003).

2.3 Fatores não nutricionais que afetam o teor de sólidos do leite

Diversos fatores não nutricionais afetam a composição do leite. Destacam-se: raças e nível de produção, genética, estação do ano, estresse térmico e mastite. Entender os efeitos de cada um destes fatores, assim como as possíveis interações entre eles, auxilia no estabelecimento de metas plausíveis para o trabalho nutricional visando maior teor de sólidos.

2.3.1 Raças e nível de produção

O efeito de raça utilizada sobre a composição do leite produzido é conhecido e discutido na literatura há muito tempo (LABEN, 1963). Vacas da raça Jersey, por exemplo, sabidamente produzem leite com maior teor de sólidos do que vacas da raça Holandês (MEIRELLES *et al.*, 2016). Tal fato é esperado, uma vez que vacas Holandês foram, ao longo do tempo, selecionadas para produzir kg de sólidos por lactação, e não porcentagem de sólidos por litro de leite (GIBSON, 1989).

Contudo, isolar o efeito de raça sobre a composição do leite não é tarefa simples. O nível de produção, que possui correlação genética negativa com teor de sólidos (WILCOX, 1992), pode confundir o efeito de raça. CHALFUN *et al.*, (2009), avaliando a produção e composição do leite de diferentes grupamentos genéticos Holandês x Gir (HZ), encontraram que vacas 1/2 HZ produziram leite com maior teor de gordura (3,62%) e proteína (3,30%) ao longo da lactação que vacas 3/4 HZ (3,43% gordura e 3,23% proteína). No entanto, as produções de leite também diferiram entre grupamentos genéticos, sendo 22,0 kg/dia para 1/2 HZ e 25,5 kg para 3/4 HZ. Quando os autores incluíram a produção de leite como covariável no modelo estatístico utilizado na análise dos dados, as diferenças para teor de gordura ($P = 0,37$) e proteína ($P = 0,77$) não foram significativas.

Por outro lado, VERNEQUE *et al.*, (2006), comparando animais Gir e 1/2 HZ de baixa produção (10,5 e 10,2 kg/dia, respectivamente), verificaram que as vacas Gir produziram leite com maior teor de gordura (4,50%) que vacas 1/2 HZ (3,90%), enquanto os teores de proteína foram semelhantes (3,40 e 3,30%, respectivamente).

A tabela 3 traz os teores de gordura e proteína do leite, produzido por diferentes raças, levantados no Brasil, que podem servir como base para avaliação dos resultados obtidos em fazendas. O cruzamento entre raças pode ser utilizado para alterar a composição do leite, mas, como demonstrado nos parágrafos anteriores, diferenças entre os níveis de produção também devem ser consideradas na definição da melhor estratégia para cada fazenda.

Tabela 1. Teores médios de gordura, proteína e relação gordura/proteína (GP) do leite produzido por vacas de diferentes raças, em levantamentos realizados no Brasil.

Raça	Gordura, %	Proteína, %	Relação GP	n
Holandês	3,57	3,14	1,14	102098
Jersey	4,42	3,31	1,33	2358
Girolando	3,83	3,29	1,16	4804

Fonte: Adaptado de CHALFUN, 2009; MEIRELLES *et al.*, 2016; TEIXEIRA, 2003.

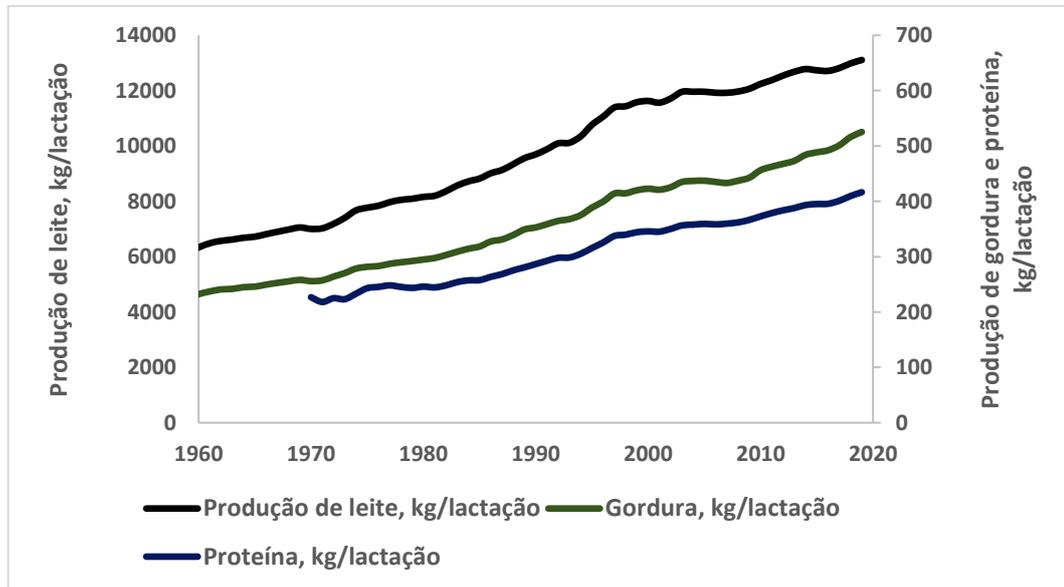
2.3.2 Genética

A seleção genética dentro de uma raça é um meio efetivo para alterar a composição do leite a longo prazo. A seleção focada em teor de gordura ou proteína traz resultados mais rápidos, uma vez que essas características apresentam maior herdabilidade, como pode ser observado na tabela 5 (WILCOX, 1992). No entanto, essa estratégia pode resultar em animais menos produtivos, como pode ser verificado na tabela 6, uma vez que a correlação genética entre teor de sólidos e produção de leite é negativa. De forma oposta, selecionar exclusivamente para produção de leite resulta em animais com baixos teores de sólidos (WILCOX, 1992).

Ao longo do tempo, a seleção de vacas Holandês no mundo focou em produção de proteína e gordura na lactação, o que resultou em grande aumento da produção de leite e manteve os teores de gordura e proteína relativamente constantes (GIBSON, 1989; CDCB, 2021). Dados fenotípicos da base genética de gado Holandês dos Estados Unidos, principal país fornecedor de sêmen de bovinos leiteiros para o Brasil (BARBOSA e MACHADO, 2008), auxiliam no entendimento destas tendências.

A produção de leite por lactação era de 6334 kg em 1960 e aumentou para 13107 kg em 2019, o que representa um crescimento de 207%. No mesmo sentido, a produção de gordura (1960 a 2019) aumentou 226% e a produção de proteína (1970 a 2019) aumentou 183% (CDCB, 2021). Estas informações estão apresentadas na figura 1.

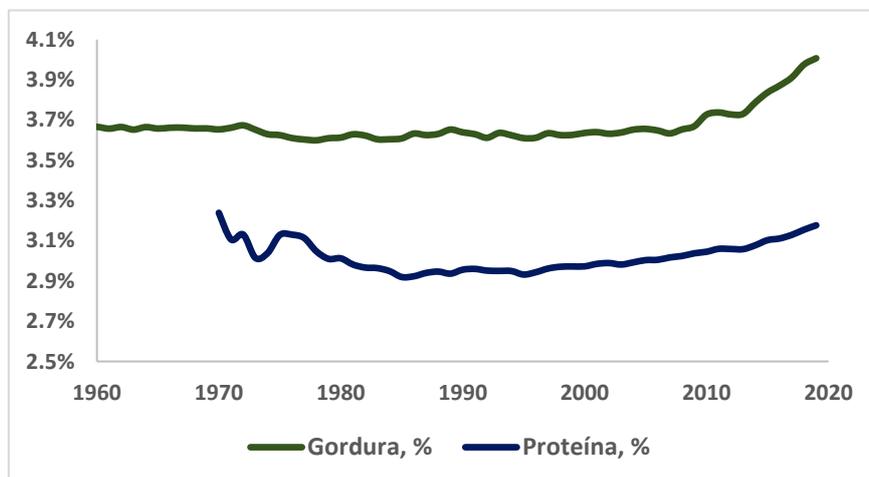
Figura 1. Tendência genética para produção de leite, gordura e proteína por lactação de gado Holandês dos Estados Unidos.



Fonte: Adaptado de CDCB, 2021.

O teor de gordura médio do leite era de 3,66% em 1960, enquanto o teor de proteína verdadeira, disponível a partir de 1970, era de 3,24% (CDCB, 2021). De forma bastante interessante, o teor de gordura permaneceu praticamente constante de 1960 a 2009, ano em que começou a apresentar ligeiros aumentos, que se tornaram mais expressivos a partir de 2014, atingindo 4,01% em 2019. O teor de proteína apresentou algumas oscilações de 1970 a 1980, tornando-se praticamente constante até 2000, onde passou a aumentar lentamente, com o crescimento mais expressivo observado no período de 2014 (3,08%) a 2019, onde chegou a 3,18%. Estas informações estão apresentadas na figura 2.

Figura 2. Tendência genética para teores de gordura e proteína médios na lactação (%) de gado Holandês nos Estados Unidos.



Fonte: Adaptado de CDCB, 2021.

É curioso que, após algumas décadas sem grandes alterações, os teores de gordura e proteína médios tenham aumentado consideravelmente de 2014 a 2019. Tal fato pode ser explicado por uma redução na velocidade de aumento da produção de leite, provavelmente resultado da adoção de diferentes estratégias de seleção genética. De 2008 a 2013, a produção de leite por lactação aumentou 713 kg, enquanto os teores de gordura e proteína aumentaram apenas 0,08 e 0,03 unidades percentuais, respectivamente (CDCB, 2021). Por outro lado, de 2014 a 2019 a produção de leite por lactação aumentou 328 kg (menos da metade do valor observado entre 2008 a 2013), mas os teores de gordura e proteína cresceram 0,22 e 0,10 unidades percentuais, respectivamente.

Considerando a produção de sólidos na lactação, a produção de gordura aumentou 35,8 kg de 2008 a 2013 e 41,3 kg de 2014 a 2019, enquanto a produção de proteína aumentou 25,9 kg de 2008 a 2013 e 23,1 kg de 2014 a 2019 (CDCB, 2021). Ou seja, o aumento nos teores de sólidos observados nos últimos anos foi suficiente para acelerar o crescimento da produção de gordura na lactação, além de praticamente manter a velocidade de crescimento da produção de proteína, mesmo com a produção de leite aumentando em um ritmo mais lento.

O mercado brasileiro ainda valoriza mais o volume de leite produzido, enquanto o mercado dos Estados Unidos valoriza a produção de gordura e proteína. Em levantamento recentemente realizado no Brasil (CARVALHO *et al.*, 2021), foi possível constatar que maiores produtores (> 2000 litros/dia) recebem 23% a mais pelo litro de leite que pequenos produtores (< 2000 litros/dia). Considerando essa realidade, faria sentido utilizar touros que aumentam volume de leite produzido, sem considerar os teores de sólidos. Contudo, diversos laticínios já aplicam bonificações significativas por qualidade do leite (chegando a 30 centavos por litro no cenário atual) (CARVALHO *et al.*, 2021), o que indica uma tendência de mercado. Como a seleção genética gera resultados a longo prazo (WILCOX, 1992), faria sentido considerar a composição do leite como parte importante das estratégias de seleção desde já.

2.3.3 Dias em lactação

Os teores de gordura e proteína do leite normalmente são mais altos no início (primeiros dias) e final de lactação, sendo menores ao redor do pico de produção, por diluição (FONSECA e SANTOS, 2019). Apesar de apresentar variabilidade bem menor, o teor de lactose normalmente acompanha o nível de produção de leite, sendo alto no início e meio, mas reduzindo com o avanço da lactação (COSTA *et al.*, 2019). O comportamento dos teores de sólidos ao longo da lactação pode ser visualizado na figura 3. O NUL normalmente acompanha

o CMS, apresentando valores mais altos cerca de quatro a oito semanas após o pico de produção de leite, provavelmente por refletir o consumo de proteína dietética (DOSKA, 2012).

2.3.4 Ritmo biológico circanual

O efeito de estação do ano sobre a composição do leite é conhecido há bastante tempo, já que os teores de gordura e proteína são mais altos no outono e inverno, consistentemente (WOOD, 1970). Tradicionalmente, as variações nos teores de gordura e proteína do leite ao longo do ano são atribuídas a mudanças nutricionais (qualidade de forragem, por exemplo) e ocorrência de estresse térmico. Contudo, trabalhos recentemente realizados nos Estados Unidos indicam que os teores de sólidos do leite seguem um ritmo biológico circanual, provavelmente determinado pela duração do dia (SALFER *et al.*, 2019; SALFER *et al.*, 2020).

Nestes trabalhos, foram utilizados dados de composição do leite individual e de tanque para quantificar os efeitos deste ritmo, através de uma técnica chamada cosinor, frequentemente aplicada em análises ritmométricas (BOURDON *et al.*, 1995). Foi possível verificar que os teores de gordura e proteína do leite se alinham aos solstícios do ano (quanto mais curta a duração do dia, maior o teor de sólidos do leite), enquanto as produções de gordura e proteína se alinham melhor aos equinócios (SALFER *et al.*, 2020). Estes resultados reforçam que a produção e composição do leite são influenciadas pela duração do dia (fotoperíodo).

As mudanças nos teores de gordura e proteína do leite ao longo do ano parecem existir independentemente da ocorrência de estresse térmico, uma vez que acontecem de maneira lenta e de forma bastante consistente ao longo dos anos avaliados (SALFER *et al.*, 2020). Em outros animais, ritmos sazonais existem para maximizar o sucesso reprodutivo, alinhando o período de parição com períodos onde a disponibilidade de alimentos é alta (LINCOLN *et al.*, 2003). Ovelhas, por exemplo, só manifestam cio na época do ano em que a duração do dia é mais curta, enquanto éguas manifestam cio na época do ano em que a duração do dia é mais longa (WEBSTER *et al.*, 1991). Como apontado por SALFER *et al.* (2020), evidências recentes sugerem que o hipotálamo acompanha mudanças no fotoperíodo através de sinais moleculares, utilizando uma espécie de relógio circadiano interno, que, uma vez estabelecido, se mantém ao longo da vida (HAZLERRIG *et al.*, 2018). Isso faz com que verdadeiros ritmos circanuais endógenos persistam mesmo quando mudanças artificiais no fotoperíodo são realizadas (SALFER *et al.*, 2020).

De forma prática, os autores dos trabalhos que caracterizaram este ritmo circanual nos Estados Unidos sugerem que a existência do ritmo deve ser considerada na avaliação dos resultados obtidos em fazendas. O efeito de mudanças de manejo ou dieta nos teores de sólidos do leite (e até mesmo na produção) podem ser mascarados ou amplificados, dependendo do mês do ano em que as mudanças forem realizadas (SALFER *et al.*, 2019).

2.3.5 Estresse térmico

O estresse térmico é um dos maiores causadores de prejuízos para a indústria leiteira no mundo (ST-PIERRE *et al.*, 2003), já que afeta parâmetros produtivos extremamente importantes, como: produção e composição do leite, crescimento e desempenho reprodutivo (BAUMGARD e RHOADS, 2013). A seleção genética para maior produção de leite, realizada intensivamente ao longo das décadas passadas, gerou animais que também produzem maior quantidade de calor metabólico e que são, portanto, mais susceptíveis ao estresse térmico (SPIERS *et al.*, 2004).

Reduções de 35 a 40% da produção de leite em vacas enfrentando estresse térmico são comuns (WEST, 2003), ocorrendo provavelmente pela redução da síntese de lactose pela glândula mamária (WHEELOCK *et al.*, 2010). Tradicionalmente, valores de Índice de Temperatura e Umidade (ITU) associados à ocorrência de estresse térmico eram > 72 (ARMSTRONG, 1994), mas trabalhos mais recentes indicam que a produção de leite começa a reduzir quando $ITU > 68$ (ZIMBELMAN *et al.*, 2009).

O estresse térmico pode afetar a síntese de sólidos do leite através de efeitos diretos e indiretos (BAUMGARD e RHOADS, 2013). Os efeitos indiretos, mais simples de serem explicados, ocorrem devido à redução de CMS comumente observada em animais mantidos em ambiente desfavorável ($ITU > 68$) (ZIMBELMAN *et al.*, 2009). Tal redução, que pode chegar até a 30% (RHOADS *et al.*, 2009), acontece porque a digestão e metabolismo dos nutrientes ingeridos gera uma quantidade considerável de calor (incremento calórico), especialmente em ruminantes (WEST, 2003). Tradicionalmente, as perdas produtivas causadas pelo estresse térmico eram atribuídas somente à redução de CMS.

No entanto, visando demonstrar que as perdas produtivas não podem ser explicadas apenas pela redução de CMS, diversos experimentos utilizando alimentação pareada foram realizados. De fato, foi possível concluir que a redução de CMS explica apenas 35 a 50% da redução de produção de leite em condições de hipertermia (RHOADS *et al.*, 2009), sendo a

fração restante explicada por alterações fisiológicas desencadeadas pelo calor (efeitos diretos) (BAUMGARD e RHOADS, 2013).

Os efeitos diretos mais conhecidos que explicam as quedas em produção e alterações na composição do leite são: redução dos níveis de GH circulantes (MOHAMMED e JOHNSON, 1985); redução da abundância de receptores hepáticos de GH (ALAMER, 2011); redução da produção de IGF-1 pelo fígado (RHOADS *et al.*, 2009); aumento gradual na concentração basal de insulina (WHEELOCK *et al.*, 2010), apesar da redução de CMS e condição catabólica; além da ativação e suprrregulação das proteínas de choque térmico (HSP) (TOMANEK, 2010). Estas alterações causam um possível aumento nas exigências de manutenção, aumento do uso de glicose por tecidos periféricos (WHEELOCK *et al.*, 2010) e aumento do catabolismo de músculos esqueléticos (RHOADS *et al.*, 2011).

É sabido que o estresse térmico pode reduzir a ruminação, aumentando os riscos de acidose e depressão da gordura do leite (DGL) (BAUMGARD e RHOADS, 2012). Além disso, vacas em estresse térmico aumentam a taxa respiratória, eliminando uma maior quantidade de CO₂. Para manter o pH sanguíneo, os rins secretam HCO₃⁻ para o sangue, reduzindo a disponibilidade de HCO₃⁻ para a saliva, o que também leva a um maior risco de acidose ruminal (BAUMGARD e RHOADS, 2012). GAO *et al.*, (2021), em um experimento onde o ITU variou de 74 a 83, detectaram maiores teores de gordura do leite em vacas resfriadas (4,65%) e vacas resfriadas em alimentação pareada (4,97%) do que em vacas sob estresse térmico (4,08%).

Contudo, os efeitos do estresse térmico por calor sobre o teor de gordura do leite relatados em literatura são controversos. RHOADS *et al.*, (2009) não detectaram diferenças no teor de gordura do leite produzido por vacas em estresse e vacas em conforto térmico alimentadas de forma pareada (3,90 vs. 3,68%, respectivamente. $P = 0,14$), enquanto WHEELOCK *et al.*, (2010) observaram aumento no teor de gordura do leite produzido por vacas em estresse calórico (3,85 vs. 3,46%. $P = 0,05$). Estes últimos resultados podem ser explicados por um efeito de concentração, uma vez que a produção de leite reduz com a ocorrência de estresse térmico, mas quedas proporcionais na produção de gordura do leite nem sempre são observadas (COWLEY *et al.*, 2015).

Os efeitos do estresse por calor no teor de proteína do leite são mais consistentes. COWLEY *et al.*, (2015) observaram que a redução de proteína do leite, normalmente observada em condições de estresse térmico por calor, ocorre pela redução da capacidade de síntese proteica da glândula mamária, e não simplesmente pela redução da produção de leite como um

todo, o que parece coerente com o mecanismo de funcionamento da resposta integrada ao estresse (WAY e POPKO, 2016).

Tabela 2. Efeito do estresse térmico sobre produção de leite, teor de gordura e proteína.

Referência	Prod. de leite, kg/dia	Gordura, %	Proteína, %
Rungruang et al., 2014	- 3,5	+ 0,20	- 0,10
Baumgard et al., 2011	- 6,2	+ 0,28	- 0,12
Wheelock et al., 2010	- 9,6	+ 0,60	- 0,27
Rhoads et al., 2009	- 10,6	+ 0,34	- 0,13
Schwartz et al., 2009	- 10,0	+ 0,06	- 0,22

Fonte: Do autor, 2021.

Estudos observacionais (SMITH *et al.*, 2013; BERNABUCCI *et al.*, 2015) e trabalhos conduzidos em ambiente controlado (KNAPP e GRUMMER, 1991; COWLEY *et al.*, 2015; GAO *et al.*, 2017) relatam menor teor de proteína no leite de vacas sob estresse térmico. De forma mais detalhada, GAO *et al.*, (2021) observaram maiores teores de proteína do leite em vacas resfriadas (3,72%) e vacas resfriadas em alimentação pareada (3,69%) do que em vacas sob estresse térmico (3,41%). Neste último estudo, as atividades sanguíneas das enzimas catalase e glutathione peroxidase aumentaram nas vacas resfriadas, indicando melhor atividade antioxidante. Os animais resfriados também apresentaram maiores concentrações sanguíneas de glicose, metionina, treonina e cistationina, indicando que o resfriamento foi eficiente em aumentar a quantidade de nutrientes disponíveis para a síntese de proteína do leite

A concentração de NUL também pode ser afetada por estresse térmico. GAO *et al.*, (2017), comparando vacas em alimentação pareada com vacas em estresse térmico, relatam aumento de 13,8 para 18,3 mg/dL nos níveis de NUL, respectivamente. Neste mesmo trabalho, vacas em estresse térmico produziram menos proteína do leite (705 vs. 571 g/dia, $P = 0,04$) e não apresentaram diferenças na síntese de proteína microbiana, mas apresentaram menor concentração de AA livres e maiores níveis de nitrogênio ureico no plasma, condições que sugerem uma maior utilização sistêmica de AA. Os autores sugerem que estes AA podem ter sido utilizados para síntese de glicose, uma vez que 78% da redução da concentração no plasma foi correspondente a AA gliconeogênicos.

2.3.6 Mastite e contagem de células somáticas

A mastite é uma das doenças mais prevalentes em rebanhos leiteiros no mundo (BUSANELLO *et al.*, 2017), causando grandes prejuízos por reduzir a produção e alterar a composição do leite. A contagem de células somáticas (CCS) é a principal ferramenta de diagnóstico para mastite subclínica (BUSANELLO *et al.*, 2017), devido à sua alta sensibilidade (73 a 75%) e especificidade (86 a 89%) quando o limite de 200.000 células/mL é utilizado (DOHOO e LESLIE, 1991).

Como a prevalência de mastite subclínica em rebanhos brasileiros é sabidamente alta (46,4%) e os últimos dados disponíveis na literatura não demonstram que melhorias estão ocorrendo (BUSANELLO *et al.*, 2017), é importante entender e considerar os efeitos da mastite nos teores de sólidos do leite.

A mastite pode impactar os teores de gordura, proteína e lactose do leite por modificar a permeabilidade dos vasos sanguíneos da glândula mamária, além de afetar diretamente a capacidade de síntese das células epiteliais (MACHADO *et al.*, 2000). Conforme PEREIRA *et al.*, (1999), o aumento da CCS estaria associado à redução na porcentagem de gordura, lactose, sólidos totais e ao aumento do teor de proteína do leite. Contudo, os mesmos autores discutem que os efeitos da mastite sobre a composição do leite podem variar conforme a redução da produção de leite, também esperada. Caso a produção de leite reduza proporcionalmente mais que a produção de gordura, por exemplo, espera-se aumento no teor deste componente.

O efeito mais consistente da mastite ocorre sobre o teor de lactose. As correlações fenotípicas entre teor de lactose e CCS vão de -0,15 a -0,66 (VILAS-BOAS *et al.*, 2017). A redução do teor de lactose causada por mastite ocorre através de três mecanismos distintos: redução da síntese de lactose pela inflamação e infecção nas células secretoras; disfunção das junções de oclusão das células epiteliais mamárias, causando perda de lactose para o sangue e urina; uso de lactose pelos patógenos causadores de mastite (COSTA *et al.*, 2019). A redução da quantidade de lactose explica as graves quedas de produção de leite observadas com a ocorrência de mastite

Neste sentido, MACHADO *et al.*, (2000), relacionando a CCS em tanques com a composição do leite, observaram que o teor de lactose (4,53 vs. 4,44%) e proteína (3,22 vs. 3,17%) do leite reduzem quando $CCS > 500.000$ células/mL, enquanto o teor de gordura aumenta (3,58 vs. 3,70%) quando $CCS > 1.000.000$ células/mL. O mesmo padrão foi encontrado por PAIXÃO *et al.*, (2017). Estudando o efeito de um quarto do úbere com mastite

clínica sobre a composição do leite produzido pelos outros três quartos, estes autores verificaram que o leite de vacas saudáveis apresentou maior teor de proteína (3,25 vs. 3,07%, $P < 0,01$) e lactose (4,83 vs. 4,65, $P < 0,01$), mas menor teor de gordura (2,54 vs. 3,07%, $P < 0,01$) que o leite produzido por vacas com mastite clínica.

2.4 Fatores nutricionais que afetam o teor de sólidos do leite

2.4.1 Nutrição e gordura do leite

Os principais fatores nutricionais que afetam o teor de gordura do leite são: teor e degradabilidade do amido dietético (BRADFORD e ALLEN, 2004; GOZHO e MUTSVANGWA, 2008; OBA e ALLEN, 2003); teor de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN); teor de fibra insolúvel em detergente neutro fisicamente efetivo (FDNfe) (YANG *et al.*, 2001; ZEBELI *et al.*, 2012; WOOLPERT *et al.*, 2017) e digestibilidade da FDN (OBA e ALLEN, 1999); teor de extrato etéreo (EE) e extrato etéreo insaturado (EEins) (KOCH *et al.*, 2019).

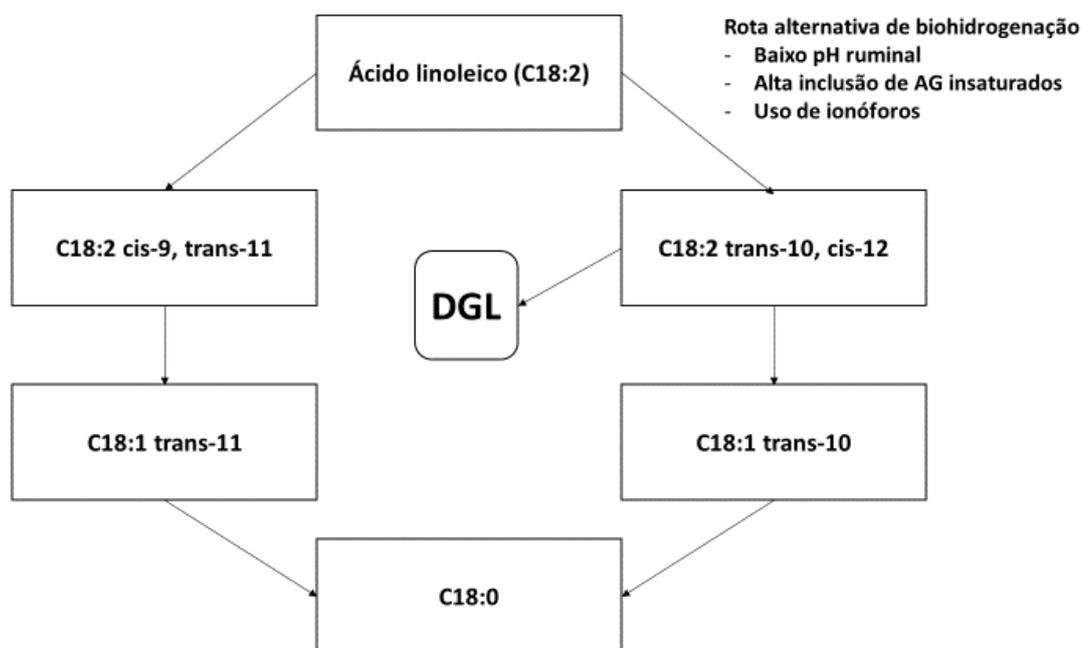
A quantidade de amido degradável no rúmen e teor de FDNfe (> 8 mm) da dieta estão associados ao risco de ocorrência de acidose ruminal subaguda. Por aumentar a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no rúmen, maiores níveis de amido aumentam o risco de acidose (BRADFORD e ALLEN, 2004). Por outro lado, a maior quantidade de FDNfe está associada a maior saúde ruminal, por promover mastigação, produção de saliva, formação do MAT, motilidade ruminal e a absorção de AGCC (ZEBELI *et al.*, 2012). Tal relação tem grande importância para a síntese de gordura do leite, uma vez que a ocorrência de acidose ruminal pode causar a redução da produção de gordura pela glândula mamária. Um estudo de campo, por exemplo, relata redução da produção de leite em 2,7 kg/dia e redução de 0,3 unidades percentuais no teor de gordura do leite produzido por vacas em acidose ruminal subaguda (STONE, 1999).

Variáveis de manejo alimentar também têm sido associadas ao teor e perfil da gordura do leite, como, por exemplo, número de alimentações por dia, espaço de cocho disponível por vaca (WOOLPERT *et al.*, 2017) e qualidade de mistura da dieta total (TMR) (OELBERG e STONE, 2014). Condições de manejo que permitem a seleção de alimentos pela vaca aumentam o risco de acidose ruminal, já que podem causar o consumo de uma dieta inadequada em FDNfe, caso ocorra seleção contra partículas longas (OETZEL, 2007). MILLER-CUSHON e DEVRIES (2017) verificaram que para cada 10% de seleção contra partículas longas, espera-

se queda de 0,10 unidades percentuais no teor de gordura do leite. Por outro lado, já foi demonstrado que vacas leiteiras enfrentando desafio de baixo pH ruminal podem aumentar o consumo de partículas longas da dieta, quando disponíveis, amenizando um possível quadro de acidose ruminal subaguda (KEUNNEN *et al.*, 2002; MAULFAIR *et al.*, 2013).

A DGL é muito estudada e ocorre quando as condições ruminais levam à rota alternativa de biohidrogenação dos ácidos graxos poli-insaturados advindos da dieta (BAUMAN e GRIINARI, 2001). A rota alternativa de biohidrogenação tem maior chance de ocorrer em condições de baixo pH ruminal e/ou quando há alta inclusão de ácidos graxos insaturados (LOCK *et al.*, 2006). Esta rota leva a formação de ácidos linoleico conjugados (CLA) intermediários, que escapam do rúmen e atuam diretamente na glândula mamária. Destes CLA, o mais estudado é CLA trans-10, cis-12, que atua como potente inibidor da síntese de gordura do leite. BAUMGARD *et al.*, (2000) observaram queda no teor de gordura do leite de 3,22% para 2,36%, além de queda na produção de gordura do leite de 1034 g/dia para 742 g/dia, infundindo 10 g/dia de CLA trans-10, cis-12 no abomaso de vacas leiteiras. O mecanismo pelo qual CLA intermediários atuam na glândula mamária ainda está sendo estudado e provavelmente consiste na inibição de enzimas relacionadas a captação, transporte, síntese e esterificação de ácidos graxos na glândula mamária (JENKINS, 2014). Contudo, a DGL tem sido correlacionada de forma mais intensa com a redução da síntese de novo de ácidos graxos (WOOLPERT *et al.*, 2017).

Figura 4. Rotas normal e alternativa de biohidrogenação no rúmen.



Fonte: Adaptado de JENKINS, 2014.

Tendo em vista o relacionamento entre metabolismo microbiano no rúmen, metabolismo intermediário da vaca e a gordura do leite, o perfil de ácidos graxos da gordura do leite é bastante estudado e relacionado a fatores nutricionais. O perfil de ácidos graxos de cadeia ímpar e ramificada, por exemplo, é utilizado como marcador de função ruminal, já que altos níveis de ácido graxo iso C15:0 e iso C17:0 indicam predominância de bactérias celulolíticas no rúmen, enquanto altos níveis de anteiso C15:0 e anteiso C17:0 indicam predominância de bactérias amilolíticas (FIEVEZ *et al.*, 2012). Sendo assim, baixa relação de ácidos graxos iso/anteiso indica acidose.

Pesquisas recentes relatam o uso da quantidade de ácidos graxos de novo e ácidos graxos de origem mista, em g/100g de leite, além do número de insaturações por ácido graxo do leite como ferramenta de avaliação nutricional (BARBANO, 2018). Nestes levantamentos, a quantidade de ácidos graxos de novo no leite do tanque apresentou correlação alta e positiva com o teor de gordura ($R^2 = 0,80$) e teor de proteína do leite ($R^2 = 0,53$), bem como a quantidade de ácidos graxos de origem mista com teor de gordura ($R^2 = 0,88$). Por outro lado, o número de insaturações por ácido graxo do leite apresentou correlação negativa com o teor de gordura ($R^2 = 0,69$). Também foram encontradas relações entre práticas de manejo, como maior taxa de lotação em sistema *free stall* e menor frequência de alimentação, com menor quantidade de ácidos graxos de novo (g/100g de leite) e menor teores de sólidos no leite (WOOLPERT *et al.*, 2016).

2.4.2 Nutrição e proteína do leite

A nutrição de vacas tem o potencial de alterar o teor de proteína do leite produzido, apesar deste componente variar muito menos que a gordura. Com o estímulo da produção de proteína do leite, muitas vezes ocorre aumento na própria produção de leite e não são observadas alterações no teor deste componente. No entanto, LOOPER (2012) relata mudanças de até 0,6 pontos percentuais no teor de proteína do leite devido a variações nutricionais em casos extremos, sendo mais comumente alcançadas alterações de 0,1 a 0,2 pontos percentuais.

Os fatores não nutricionais afetam os teores de gordura e proteína de forma parecida, mas os fatores nutricionais são diferentes, dada a correlação normalmente negativa entre teor de gordura e proteína (EMERY, 1978). A relação gordura/proteína, por conta da correlação negativa entre gordura e proteína do leite, tem sido utilizada como forma indireta de detecção de acidose ruminal (quando relação gordura/proteína < 1) No entanto, tal recomendação não apresenta ampla comprovação científica (OETZEL, 2007; GLATZ-HOPPE *et al.*, 2020). Por

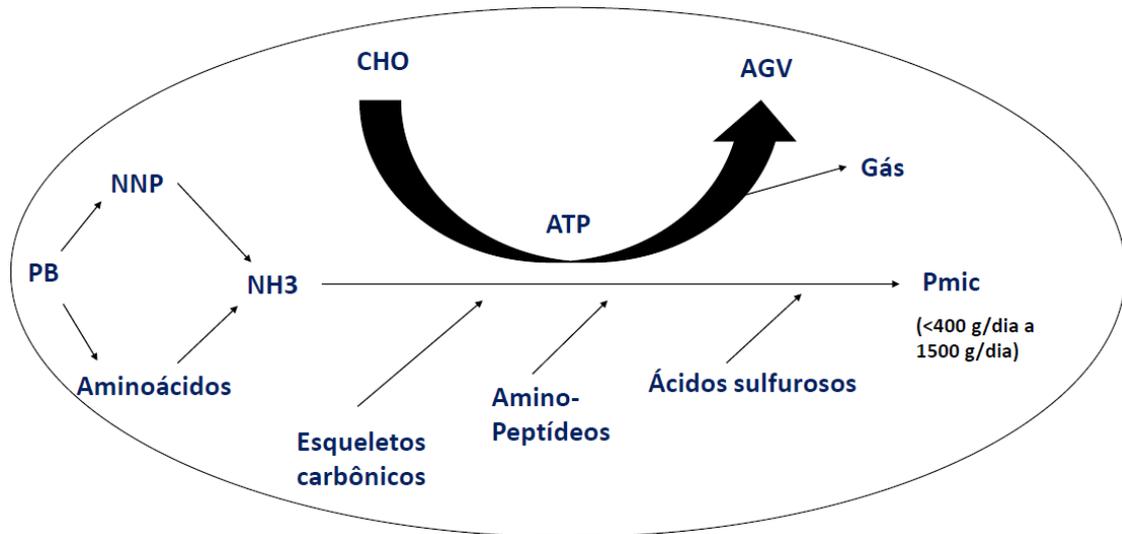
outro lado, a relação gordura/proteína no leite funciona como um bom indicador de balanço energético (GLATZ-HOPPE *et al.*, 2020). A síntese de gordura e proteína do leite são processos complexos e biologicamente distintos e, apesar da correlação normalmente negativa, algumas condições de manejo nutricional podem aumentar ambos (WOOLPERT *et al.*, 2017).

A proteína microbiana (Pmic) normalmente é a principal fonte de aminoácidos para ruminantes, chegando a representar de 45% a 55% da proteína metabolizável (PM) no intestino de vacas leiteiras de alta produção, o que torna a maximização da síntese de Pmic o objetivo básico da nutrição proteica. A síntese de Pmic é um processo complexo, principalmente afetado por teor e qualidade dos carboidratos dietéticos, quantidade de PDR disponível e pela taxa de passagem, que é principalmente afetada pelo nível de CMS (NASEM, 2021).

O aumento da produção de Pmic tem sido relacionado à maior quantidade de energia fermentável no rúmen, seja por maior teor de amido dietético (OBA e ALLEN, 2003), maior degradabilidade do amido (POORE *et al.*, 1993) ou maior digestibilidade da FDN (DEPETERS e CANT, 1992). Por outro lado, o aumento do teor de FDN da dieta por aumento da inclusão de forragem pode causar redução do CMS e diminuição da produção de Pmic (CHUN LI *et al.*, 2020). O papel dos carboidratos no metabolismo ruminal e, conseqüentemente, na produção de proteína do leite é de grande importância e conhecido há muito tempo. SPORN DLY, (1989) relata maior correlação entre teor de proteína do leite com consumo de energia dietética do que com consumo de proteína. Contudo, devido à complexidade do ambiente ruminal, estas respostas nem sempre são observadas. Caso o teor de amido degradável no rúmen esteja desbalanceado em relação ao teor de FDNfe e ocorra acidose ruminal subaguda, as respostas encontradas na síntese de Pmic podem ser contrárias (ALLEN, 1999).

Um balanço negativo de PDR e, conseqüentemente, falta de amônia no ambiente ruminal pode reduzir a síntese de Pmic, digestibilidade de fibra e CMS (SCHWAB e BRODERICK, 2017). No entanto, desde que suprida a exigência de PDR, o teor de PB da dieta tem pouco efeito sobre a produção de Pmic (IPHARRAGUERRE e CLARK, 2005). Indo além do teor de PB, já foram demonstrados efeitos positivos e negativos de aminoácidos específicos e peptídeos dietéticos sobre a síntese de Pmic (KAJIKAWA *et al.*, 2002), sinalizando que dietas com alta quantidade de nitrogênio não proteico, normalmente na forma de ureia, podem reduzir o aporte de aminoácidos para a vaca e, conseqüentemente, reduzir a produção de proteína do leite.

Figura 5. Esquema representando a síntese de Pmic no rúmen.

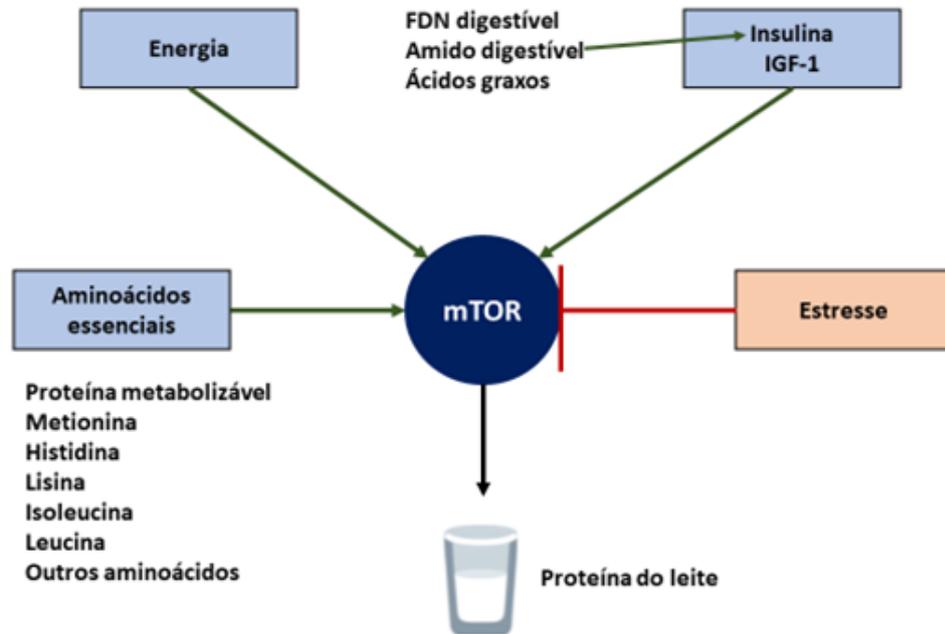


Fonte: Adaptado de OWENS e ZINN, 1988.

A PM pode ser conceituada como *pool* de aminoácidos absorvidos no intestino, disponível para uso do animal (NRC, 2001). A quantidade de PM que chega à veia porta depende da quantidade de Pmic e PNDR que chega ao intestino, além da digestibilidade de ambas. O perfil de aminoácidos da PM impacta o metabolismo pós-absortivo e a produção de proteína do leite (NASEM, 2021). Os aminoácidos essenciais lisina, metionina e histidina foram identificados como os mais limitantes para síntese de proteína do leite e, por este motivo, metionina e lisina protegidas da degradação ruminal estão disponíveis comercialmente para suplementação de vacas leiteiras (SCHWAB e BRODERICK, 2017).

Na tentativa de entender se existe apenas um único nutriente limitante para a produção de leite, como acreditado anteriormente, RIUS *et al.*, (2010) forneceram dietas variando em energia (Mcal/kg) e proteína (aporte de PM) para vacas leiteiras e observaram efeito aditivo e independente do aumento de ambos nutrientes na produção leite, mostrando que a teoria de um único nutriente limitante não condiz com a realidade. Indo além e buscando entender o efeito de aminoácidos específicos sobre o metabolismo mamário, LIU *et al.*, 2017 suplementou roedores lactantes com aminoácidos essenciais, observando aumentos no ganho de peso da ninhada com a inclusão de leucina, isoleucina e metionina. No mesmo experimento, foram avaliadas as respostas à suplementação destes aminoácidos essenciais em parâmetros de sinalização celular, sendo que o índice de fosforilação de mTOR (mTOR fosforilada/mTOR total) foi maior com a suplementação de cada aminoácido, de forma independente e aditiva.

Figura 6. Esquema representando os fatores que afetam a síntese de proteína do leite.



Fonte: Adaptado de NASEM, 2021.

2.4.3 Nutrição e nitrogênio ureico do leite

O NUL é utilizado como ferramenta de monitoramento do balanço de proteína e carboidratos na dieta de vacas leiteiras (BRODERICK e CLAYTON, 1997). Excesso de proteína na dieta de ruminantes é indesejável por vários motivos, destacando-se o alto custo de ingredientes proteicos, o impacto ambiental negativo (FRANK e SWENSSON, 2002) e possível redução do desempenho reprodutivo (SHINGFIELD *et al.*, 1999).

Apesar do grande potencial de uso como ferramenta nutricional, o NUL também é muito afetado por fatores não nutricionais, tendo correlação positiva ($r = 0,34$) com nível de produção, variando com estágio de lactação e dependendo até mesmo de raça (DOSKA *et al.*, 2012). Assim, tais fatores devem ser levados em consideração na avaliação do NUL de um lote de animais ou rebanho.

Uma ampla avaliação realizada por MEYER *et al.*, (2006) mostrou que a variação de NUL pode ser 60 a 65% explicada pela produção de leite e pelo teor de proteína do leite. De forma interessante, a correlação de NUL com a produção de leite foi positiva, enquanto a correlação de NUL com teor de proteína do leite foi negativa. Os fatores nutricionais que mais afetam o NUL parecem ser PB da dieta (NOUSIAINEN, 2004) e quantidade de energia

fermentável (principalmente na forma de amido) (ALMEIDA, 2012). Tais associações fazem sentido, dada a necessidade da adequação entre proteína e carboidratos da dieta para maximizar função ruminal e aumentar a eficiência de uso do nitrogênio. Tendo isso em mente, ALMEIDA (2012) recomenda valores de NUL de 10 a 14 mg/dL para rebanhos brasileiros, embora vários rebanhos americanos tenham sucesso trabalhando com valores mais baixos, uma vez que no Brasil existe menor disponibilidade de alimentos fontes de proteína não degradável no rúmen (PNDR) e menor uso de aminoácidos protegidos da degradação ruminal.

Contudo, apesar do NUL ser uma forma útil, não invasiva e relativamente barata para monitorar a nutrição proteica, um levantamento recentemente realizado (DANES e ANDRADE, 2017) encontrou que 68% dos avaliados realizam análise de NUL somente no leite do tanque e 37% não realizam de forma alguma, mostrando potencial para maior uso da ferramenta.

REFERÊNCIAS

- ALAMER, M. et al. The role of prolactin in thermoregulation and water balance during heat stress in domestic ruminants. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 6, n. 12, p. 1153-1169, 2011.
- ALLEN, M. S; BRADFORD, B. J; OBA, M. Board-invited review: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 10, p. 3317-3334, 2009.
- ALMEIDA, R. Nitrogênio ureico no leite como ferramenta para ajuste de dietas. **Leite Integral**. 2012. Disponível em: <<https://www.revistaleiteintegral.com.br/noticia/nitrogenio-ureico-no-leite-como-ferramenta-para-ajuste-de-dietas---parte-i>>. Acesso em 21/01/2022.
- APPUHAMY, J. A. D. et al. Essential amino acids regulate both initiation and elongation of mRNA translation independent of insulin in MAC-T cells and bovine mammary tissue slices. **The Journal of Nutrition**, v. 141, n. 6, p. 1209-1215, 2011.
- ARMSTRONG, D. V. Heat stress interaction with shade and cooling. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 7, p. 2044-2050, 1994.
- BARBANO, D. et al. New Milk Analysis Metrics for Dairy Herd Management. 2018.
- BARBER, M. C. et al. Lipid metabolism in the lactating mammary gland. **International Journal of Biochemistry and Biophysics**, 1997.
- BARBOSA, R. T; MACHADO, R. Panorama da inseminação artificial em bovinos. **Embrapa Pecuária Sudeste**. 2008.
- BAUMAN, D. E; GRIINARI, J. M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science**, v. 70, n. 1-2, p. 15-29, 2001.
- BAUMAN, D. E; GRIINARI, J. M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual review of nutrition**, v. 23, n. 1, p. 203-227, 2003.
- BAUMGARD, L. H. et al. Postabsorptive carbohydrate adaptations to heat stress and monensin supplementation in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 11, p. 5620-5633, 2011.
- BAUMGARD, L. H; RHOADS J. R. Effects of heat stress on postabsorptive metabolism and energetics. **Annual Review of Animal Biosciences**., v. 1, n. 1, p. 311-337, 2013.
- BAUMRUCKER, C. R. Amino acid transport systems in bovine mammary tissue. **Journal of Dairy Science**, v. 68, n. 9, p. 2436-2451, 1985.
- BELL, A. W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 9, p. 2804-2819, 1995.
- BERNABUCCI, U. et al. Effect of summer season on milk protein fractions in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 3, p. 1815-1827, 2015.
- BIONAZ, M et al. Functional role of PPARs in ruminants: potential targets for fine-tuning metabolism during growth and lactation. **PPAR research**, v. 2013, 2013.
- BOURDON, L. et al. Use of a spreadsheet program for circadian analysis of biological/physiological data. **Aviation, space, and environmental medicine**, v. 66, n. 8, p. 787-791, 1995.
- BRADFORD, B. J; ALLEN, M. S. Milk fat responses to a change in diet fermentability vary by production level in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 11, p. 3800-3807, 2004.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Valor Bruto da Produção Agropecuária**. 2019. Disponível em: < <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/vbp-e>

estimado-em-r-689-97-bilhoes-para_2020/202003VBPelaspeyresagropecuariapdf.pdf >. Acesso em: 24/04/2021.

BRODERICK, G. A; CLAYTON, M. K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 11, p. 2964-2971, 1997.

BUSANELLO, M. et al. Estimation of prevalence and incidence of subclinical mastitis in a large population of Brazilian dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 8, p. 6545-6553, 2017.

CANT, J. P. et al. Milk synthetic response of the bovine mammary gland to an increase in the local concentration of arterial glucose. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 3, p. 494-503, 2002.

CARVALHO, G.R; CHAVES, D.O; ROCHA, D. T. Pagamento por volume: um desafio para pequenos produtores de leite. **Milkpoint**. 2021. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/noticias-e-mercado/panorama-mercado/diferencial-de-precos-por-volume-um-desafio-para-os-pequenos-produtores-224695/>>. Acesso em: 21/01/2022.

CARVALHO, M. P. A grande transformação. **Milkpoint**. 2021. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/colunas/marcelo-pereira-de-carvalho/a-grande-transformacao-227948/>>. Acesso em 21/01/2022.

CDCB (Council of Dairy Cattle Breeding). 2021. **Genetic and phenotypic trends**. Accessed Nov. 11, 2021. <https://queries.uscdcb.com/eval/summary/trend.cfm?R_Menu=HO#StartBod>

CHALFUN, L. T. F. Produção e composição do leite de diferentes grupamentos genéticos da raça holandesa. **Tese de Doutorado em Tecnologia dos Alimentos**. Universidade Federal de Lavras, 2009.

COSTA, A. et al. Invited review: Milk lactose—Current status and future challenges in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 7, p. 5883-5898, 2019.

COULON, J. et al. Factors contributing to variation in the proportion of casein in cows' milk true protein: a review of recent INRA experiments. **Journal of Dairy Research**, v. 65, n. 3, p. 375-387, 1998.

COWLEY, F. C. et al. Immediate and residual effects of heat stress and restricted intake on milk protein and casein composition and energy metabolism. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 4, p. 2356-2368, 2015.

DANÉS, M. A. C; ANDRADE, A. F. M. S. R. E. Nutrição de precisão: como o NUL pode ajudar na formulação de dietas mais precisas? **Milkpoint**. 2017. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/colunas/marina-danes/nutricao-de-precisao-como-o-nul-pode-ajudar-na-formulacao-de-dietas-mais-precisas-103999n.aspx>>. Acesso em 21/01/2022.

DEPETERS, E. J; CANT, J. P. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 8, p. 2043-2070, 1992.

DEPETERS, E. J; FERGUSON, J. D. Nonprotein nitrogen and protein distribution in the milk of cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 11, p. 3192-3209, 1992.

DOHOO, I. R; LESLIE, K. E. Evaluation of changes in somatic cell counts as indicators of new intramammary infections. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 10, n. 3, p. 225-237, 1991.

DOSKA, M. C. et al. Sources of variation in milk urea nitrogen in Paraná dairy cows. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 3, p. 692-697, 2012.

EMERY, R. S. Feeding for increased milk protein. **Journal of Dairy Science**, v. 61, n. 6, p. 825-828, 1978.

FAO (Food and Agriculture Organization). **Overview of global dairy market developments in 2018**. 2019. Disponível em: <<http://www.fao.org/publications/card/en/c/CA3879EN/>>. Acesso em: 24/04/2021.

- FEATHERSTONE, W. R. et al. Constancy of amino acid composition of cow's milk protein under changing ration. **Journal of Dairy Science**, v. 47, p. 1417-1418, 1964.
- FIEVEZ, V. et al. Milk odd-and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function—An update. **Animal Feed Science and Technology**, v. 172, n. 1-2, p. 51-65, 2012.
- FOX, P. F. et al. Production and utilization of milk. **Dairy chemistry and biochemistry**. 2015. p. 1-19.
- FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. **Dairy chemistry and biochemistry**. 1998.
- FRANK, B; SWENSSON, C. Relationship between content of crude protein in rations for dairy cows and milk yield, concentration of urea in milk and ammonia emissions. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 7, p. 1829-1838, 2002.
- GAO, S. T. et al. Cooling ameliorates decreased milk protein metrics in heat-stressed lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 11, p. 12139-12152, 2021.
- GAO, S. T. et al. The effects of heat stress on protein metabolism in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 6, p. 5040-5049, 2017.
- GIBSON, J. P. Economic weights and index selection of milk production traits when multiple production quotas apply. **Animal Science**, v. 49, n. 2, p. 171-181, 1989.
- GLATZ-HOPPE, J. et al. Relationship between milk constituents from milk testing and health, feeding, and metabolic data of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 11, p. 10175-10194, 2020.
- GOZHO, G. N; MUTSVANGWA, T. Influence of carbohydrate source on ruminal fermentation characteristics, performance, and microbial protein synthesis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 7, p. 2726-2735, 2008.
- GRUMMER, R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 9, p. 2820-2833, 1995.
- HA, J. et al. Critical phosphorylation sites for acetyl-CoA carboxylase activity. **Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 35, p. 22162-22168, 1994.
- HARDIE, D. Grahame. The AMP-activated protein kinase pathway—new players upstream and downstream. **Journal of Cell Science**, v. 117, n. 23, p. 5479-5487, 2004.
- HARDING, H. P. et al. An integrated stress response regulates amino acid metabolism and resistance to oxidative stress. **Molecular Cell**, v. 11, n. 3, p. 619-633, 2003.
- HARVATINE, K. J; BOISCLAIR, Y. R; BAUMAN, D. E. Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. **Animal**, v. 3, n. 1, p. 40-54, 2009.
- HAZLERIGG, D. et al. Neuroendocrine correlates of the critical day length response in the Soay sheep. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 30, n. 9, p. e12631, 2018.
- HURLEY, W. L; MORIN, D. E. **Lactation biology**. Department of Animal Science university of Illinois, p. 43-233, 2003.
- IBGE. **Censo Agropecuário 2017**. 2019. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/3096/agro_2017_resultados_definitivos.pdf>. Acesso em: 26/04/2021.
- IBRAHIM, H. R. et al. Novel angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides from caseins and whey proteins of goat milk. **Journal of Advanced Research**, v. 8, n. 1, p. 63-71, 2017.
- IPHARRAGUERRE, I. R; CLARK, J. H. Impacts of the source and amount of crude protein on the intestinal supply of nitrogen fractions and performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. E22-E37, 2005.

- JENKINS, T. C; HARVATINE, K. J. Lipid feeding and milk fat depression. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 30, n. 3, p. 623-642, 2014.
- JENSEN, R. G. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 2, p. 295-350, 2002.
- KAJIKAWA, H. et al. Stimulatory and inhibitory effects of protein amino acids on growth rate and efficiency of mixed ruminal bacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 8, p. 2015-2022, 2002.
- KEUNEN, J. E. et al. Effects of a subacute ruminal acidosis model on the diet selection of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 12, p. 3304-3313, 2002.
- KNAPP, D. M; GRUMMER, R. R. Response of lactating dairy cows to fat supplementation during heat stress. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 8, p. 2573-2579, 1991.
- KOCH, L. E. et al. Changes in fermentation and animal performance during recovery from classical diet-induced milk fat depression using corn with differing rates of starch degradability. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 6, p. 5079-5093, 2019.
- KUDCHODKAR, S. B. et al. AMPK-mediated inhibition of mTOR kinase is circumvented during immediate-early times of human cytomegalovirus infection. **Journal of virology**, v. 81, n. 7, p. 3649-3651, 2007.
- BAUMGARD, L. H; RHOADS, R. P. Ruminant Nutrition Symposium: Ruminant Production and Metabolic Responses to Heat Stress. **Journal of Animal Science**, Volume 90, Issue 6, Pages 1855–1865, 2012.
- LABEN, R. C. Factors responsible for variation in milk composition. **Journal of Dairy Science**, v. 46, n. 11, p. 1293-1301, 1963.
- LI, Chun; BEAUCHEMIN, Karen A.; YANG, Wenzhu. Feeding diets varying in forage proportion and particle length to lactating dairy cows: I. Effects on ruminal pH and fermentation, microbial protein synthesis, digestibility, and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 5, p. 4340-4354, 2020.
- Lincoln, G. A., H. Anderson, and A. Loudon. 2003. Clock genes in calendar cells as the basis of annual timekeeping in mammals—A unifying hypothesis. **Journal of Endocrinology**. 179:1–13.
- LIU, G. M. et al. Methionine, leucine, isoleucine, or threonine effects on mammary cell signaling and pup growth in lactating mice. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 5, p. 4038-4050, 2017.
- LOCK, A. L. et al. Milk fat depression: impact of dietary components and their interaction during rumen fermentation. In: Proc. **Cornell Nutrition Conference**. 2006. p. 75-85.
- LOFTEN, J. R. et al. Invited review: Palmitic and stearic acid metabolism in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 8, p. 4661-4674, 2014.
- LOOPER, M. L. et al. **Factors affecting milk composition of lactating cows**. 2012.
- MACHADO, P. F. et al. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 1883-1886, 2000.
- MAULFAIR, D. D. et al. Subacute ruminal acidosis and total mixed ration preference in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 10, p. 6610-6620, 2013.
- MEIRELLES, C. P. et al. Importância do controle leiteiro na avaliação da composição do leite de vacas jersey no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 14, n. 3, p. 79-79, 2016.
- MEYER, P. M. et al. Fatores não-nutricionais e concentração de nitrogênio uréico no leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 1114-1121, 2006.

- MILLER-CUSHON, E. K; DEVRIES, T. J. Feed sorting in dairy cattle: Causes, consequences, and management. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 5, p. 4172-4183, 2017.
- MOHAMMED, M. E; JOHNSON, H. D. Effect of growth hormone on milk yields and related physiological functions of Holstein cows exposed to heat stress. **Journal of Dairy Science**, v. 68, n. 5, p. 1123-1133, 1985.
- NASEM. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Eighth Revised Edition**. 2021. Washington, DC: The National Academies Press.
- NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle: 2001**. Washington, DC: National Academies Press, 2001.
- NEVILLE, M. C; PICCIANO, M. F. Regulation of milk lipid secretion and composition. **Annual review of nutrition**, v. 17, n. 1, p. 159-184, 1997.
- NOUSIAINEN, J. et al. Evaluation of milk urea nitrogen as a diagnostic of protein feeding. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 2, p. 386-398, 2004.
- OBA, M; ALLEN, M. S. Effects of corn grain conservation method on feeding behavior and productivity of lactating dairy cows at two dietary starch concentrations. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 1, p. 174-183, 2003.
- OBA, M; ALLEN, M. S. Evaluation of the importance of the digestibility of neutral detergent fiber from forage: effects on dry matter intake and milk yield of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 3, p. 589-596, 1999.
- OELBERG, T. J; STONE, W. Monitoring total mixed rations and feed delivery systems. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 30, n. 3, p. 721-744, 2014.
- OETZEL, G. R. Subacute ruminal acidosis in dairy herds: physiology, pathophysiology, milk fat responses, and nutritional management. In: **40th Annual Conference, American Association of Bovine Practitioners**. 2007. p. 89-119.
- OSORIO, J. S. et al. Biosynthesis of milk fat, protein, and lactose: roles of transcriptional and posttranscriptional regulation. **Physiological Genomics**, v. 48, n. 4, p. 231-256, 2016.
- OWENS, F. N. et al. Protein metabolism of ruminant animals. The ruminant animal: digestive physiology and nutrition. **Englewood Cliffs: Simon & Schuster**, p. 227-249, 1988.
- PAIXÃO, M. G. et al. Milk composition and health status from mammary gland quarters adjacent to glands affected with naturally occurring clinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 9, p. 7522-7533, 2017.
- PALII, S. S. et al. Specificity of amino acid regulated gene expression: analysis of genes subjected to either complete or single amino acid deprivation. **Amino acids**, v. 37, n. 1, p. 79-88, 2009.
- PEREIRA, A. R. et al. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite I-gordura e proteína. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 36, p. 121-124, 1999.
- POORE, M. H. et al. Effect of fiber source and ruminal starch degradability on site and extent of digestion in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 8, p. 2244-2253, 1993.
- RHOADS, M. L. et al. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 5, p. 1986-1997, 2009.
- RIGOUT, S. et al. Duodenal glucose increases glucose fluxes and lactose synthesis in grass silage-fed dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 3, p. 595-606, 2002.
- RIUS, A. G. et al. Regulation of protein synthesis in mammary glands of lactating dairy cows by starch and amino acids. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 7, p. 3114-3127, 2010.

- RUNGRUANG, S. et al. A dose-response evaluation of rumen-protected niacin in thermoneutral or heat-stressed lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 8, p. 5023-5034, 2014.
- SALFER, I. J. et al. Annual rhythms of milk synthesis in dairy herds in 4 regions of the United States and their relationships to environmental indicators **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 4, p. 3696-3707, 2020.
- SALFER, I. J. et al. Annual rhythms of milk and milk fat and protein production in dairy cattle in the United States. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 1, p. 742-753, 2019.
- SANTOS, M. V; FONSECA, L. F. L. **Controle da mastite e qualidade do leite - Desafios e soluções**. Edição dos Autores: Pirassununga - SP, 2019.
- SCHWAB, C. G; BRODERICK, G. A. A 100-Year Review: Protein and amino acid nutrition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 10094-10112, 2017.
- SHENNAN, D. B; BOYD, C. A. R. The functional and molecular entities underlying amino acid and peptide transport by the mammary gland under different physiological and pathological conditions. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 19, n. 1, p. 19-33, 2014.
- SHINGFIELD, K. J; JOKELA, M; KAUSTELL, K. Association between protein feeding and reproductive efficiency in the dairy cow: specific emphasis on protein feeding in Finland. **Agricultural and Food Science**, v. 8, n. 4-5, p. 365-392, 1999.
- SIQUEIRA, K. B. O mercado consumidor de leite e derivados. Circular Técnica Embrapa, v. 120, p. 1-17, 2019.
- SMITH, D. L. et al. Comparison of the effects of heat stress on milk and component yields and somatic cell score in Holstein and Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 5, p. 3028-3033, 2013.
- SMITH, S. The animal fatty acid synthase: one gene, one polypeptide, seven enzymes. **The FASEB Journal**, v. 8, n. 15, p. 1248-1259, 1994.
- SPIERS, D. E. et al. Use of physiological parameters to predict milk yield and feed intake in heat-stressed dairy cows. **Journal of Thermal Biology**, v. 29, n. 7-8, p. 759-764, 2004.
- SPÖRNDLY, E. Effects of diet on milk composition and yield of dairy cows with special emphasis on milk protein content. **Swedish Journal of Agricultural Research**, 1989.
- STONE, W.C. The effect of subclinical rumen acidosis on milk components. Proc. **Cornell Nutrition Conference**. Cornell University, Ithaca NY. p. 40. 1999.
- ST-PIERRE, N. et al. Economic losses from heat stress by US livestock industries. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. E52-E77, 2003.
- TAYLOR, P. M. Role of amino acid transporters in amino acid sensing. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 99, n. 1, p. 223S-230S, 2014.
- TEIXEIRA, N. et al. Influência de fatores de meio ambiente na variação mensal da composição e contagem de células somáticas do leite em rebanhos no Estado de Minas Gerais. **Revista Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 4, p. 491-499, 2003.
- TOMANEK. L. Variation in the heat shock response and its implication for predicting the effect of global climate change on species biogeographical distribution ranges and metabolic costs. **Journal of Experimental Biology**. 213:971-79. 2010.
- VERNON, B. G; FLINT, D. J. Control of fatty acid synthesis in lactation. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 42, n. 2, p. 315-331, 1983.
- VILAS-BOAS, D. F. et al. Association between electrical conductivity and milk production traits in Dairy Gyr cows. **Journal of Applied Animal Research**, v. 45, n. 1, p. 227-233, 2017.

- WANG, X; PROUD, C. G. The mTOR pathway in the control of protein synthesis. **Physiology**, v. 21, n. 5, p. 362-369, 2006.
- WAY, S. W. POPKO, B. Harnessing the integrated stress response for the treatment of multiple sclerosis. **The Lancet Neurology**, v. 15, n. 4, p. 434-443, 2016.
- WEBSTER, J. R. et al. Role of the thyroid gland in seasonal reproduction. II. Thyroxine allows a season-specific suppression of gonadotropin secretion in sheep. **Endocrinology**, v. 129, n. 1, p. 176-183, 1991.
- WEST, J. W. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 6, p. 2131-2144, 2003.
- WHEELOCK, J. B. et al. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 2, p. 644-655, 2010.
- WILCOX, C. J. Genetic improvement of dairy cattle. **University of Florida Cooperative Extension Service**, Institute of Food and Agriculture Sciences, EDIS, 1992.
- WOOD, P. D. P. The relationship between the month of calving and milk production. **Animal Science**, v. 12, n. 2, p. 253-259, 1970.
- WOOLPERT, M. E. et al. Management practices, physically effective fiber, and ether extract are related to bulk tank milk de novo fatty acid concentration on Holstein dairy farms. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 6, p. 5097-5106, 2017.
- WOOLPERT, M. E. et al. Management, nutrition, and lactation performance are related to bulk tank milk de novo fatty acid concentration on northeastern US dairy farms. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 10, p. 8486-8497, 2016.
- YANG, W. Z; BEAUCHEMIN, K. A. Increasing the physically effective fiber content of dairy cow diets may lower efficiency of feed use. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 7, p. 2694-2704, 2006.
- ZEBELI, Q. et al. Invited review: Role of physically effective fiber and estimation of dietary fiber adequacy in high-producing dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 3, p. 1041-1056, 2012.
- ZIMBELMAN, R. B. et al. A re-evaluation of the impact of temperature humidity index (THI) and black globe humidity index (BGHI) on milk production in high producing dairy cows. In: **Proceedings of the Southwest Nutrition Conference**. p. 158-169. 2009.

ARTIGO 1 – EVOLUÇÃO DOS TEORES DE GORDURA E PROTEÍNA DO LEITE PRODUZIDO NO BRASIL

1. INTRODUÇÃO

Historicamente, o teor de sólidos do leite é pouco valorizado no Brasil. No entanto, com a crescente profissionalização da cadeia leiteira, este tópico ganha relevância. Cerca de 60% do leite captado pela indústria no país é destinado a produção de queijos e leite em pó (ABLV, 2017), ambos processos dependentes de altos teores de gordura e proteína para maior rendimento e lucratividade. Sendo assim, alguns laticínios já bonificam significativamente (até 30 centavos por litro) o produtor pela composição do leite produzido (CARVALHO et al., 2021; CEPEA, 2021).

Contudo, não está claro se esta tendência tem sido percebida pelos produtores como motivador para a melhoria na composição do leite, uma vez que não existem análises da evolução dos teores de sólidos do leite brasileiro disponíveis na literatura. Como no país a demanda por leite continua maior que a oferta do mercado interno, o critério mais importante na definição do preço pago ao produtor continua sendo o volume de leite produzido. CARVALHO et al., (2021), utilizando dados do CEPEA publicados de 2018 a 2021, relataram que os maiores produtores (> 2000 litros/dia) receberam até 23% a mais por litro, quando comparados a pequenos produtores (< 200 litros/dia). Esta diferença de preço pode desestimular a adoção de estratégias que aumentem os teores de gordura e proteína do leite, caso a bonificação por teor de sólidos não seja praticada pela maior parte da indústria.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi analisar a evolução temporal da composição do leite no Brasil. Dados de amostras de tanque dos seis maiores estados produtores de leite do país (Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Goiás), gerados pela Rede Brasileira de Laboratórios da Qualidade do Leite – RBQL e recentemente publicados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2021), foram utilizados para avaliar os teores de gordura e proteína bruta. Além disso, a caracterização e evolução da composição do leite de fazendas que realizaram análise individual de forma consistente nos últimos anos também foram avaliadas a partir de banco de dados disponibilizado pelo Instituto Clínica do Leite.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Avaliação dos dados de leite de tanque

Os teores de gordura e proteína bruta mensais do leite de tanque dos seis maiores estados produtores de leite do Brasil (aproximadamente 280000 tanques distribuídos em Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Goiás; IBGE, 2021), amostrados no período de 2013 a 2020, foram obtidos do Observatório da Qualidade do Leite - OQL, recentemente criado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2021). O relatório compilou dados das análises realizadas em laboratórios pertencentes a Rede Brasileira de Laboratórios da Qualidade do Leite – RBQL, principalmente por espectroscopia de infravermelho médio (MIR).

As médias de mínimos quadrados (MMQ) para os teores de gordura e proteína bruta do leite, por estado, foram calculadas utilizando o procedimento MIXED do SAS Studio. O modelo estatístico incluiu ano, estado e interação ano*estado como efeitos fixos e mês do ano como efeito aleatório. Graus de liberdade foram estimados usando o método de Kenward-Roger. A melhor estrutura de covariância foi definida pelo critério de informação de Akaike. O teste Tukey foi utilizado para comparação das MMQ entre estados e anos, sendo as diferenças consideradas significativas quando $P \leq 0,05$.

2.2 Avaliação dos dados de leite individual

Os resultados de análise de leite individual utilizados nesta avaliação foram extraídos do banco de dados do Instituto Clínica do Leite. Foram selecionadas fazendas que enviaram amostras de leite individuais com frequência mínima trimestral entre janeiro de 2017 e agosto de 2021. Inicialmente, o banco possuía 726.379 observações de 60.584 vacas em 268 fazendas. Foram removidas as observações sem identificação correta de vaca, teor de gordura < 1 ou $> 9\%$, teor de proteína bruta < 1 ou $> 7\%$, escore de contagem de células somáticas (ECCS) linear (ECCS linear = $\text{Log}_2(\text{CCS}/100.000) + 3$) < 0 ou > 9 , nitrogênio ureico do leite (NUL) < 1 ou > 40 mg/dL e observações que continham apenas dados de CCS. Restaram 614.857 observações de 57.706 vacas em 261 fazendas.

A caracterização da composição do leite (distribuição, média, mediana, desvio padrão e percentis 10, 25, 75 e 90%) das fazendas selecionadas foi gerada pelos procedimentos SGPLOT e UNIVARIATE do SAS Studio para as variáveis teor de gordura, teor de proteína bruta, teor de caseína e NUL. Para avaliar a evolução da composição do leite ao longo do período

amostrado, foram calculadas as MMQ anuais para teor de gordura, proteína bruta, caseína, NUL, ECCS linear, relação gordura/proteína e relação NUL/proteína, utilizando o procedimento MIXED do SAS Studio. O modelo estatístico incluiu ano como efeito fixo e fazenda como efeito aleatório. Graus de liberdade foram estimados usando o método de Satterthwaite. A melhor estrutura de covariância foi definida pelo Critério de Informação de Akaike. O teste Tukey foi utilizado para a comparação das MMQ para cada componente do leite entre os quatro anos, sendo as diferenças consideradas significativas quando $P \leq 0,05$. A mesma análise foi repetida com dois subconjuntos do banco de dados completo, contendo somente as fazendas de MG e SP, por serem os estados com maior representatividade no banco.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Evolução dos teores de gordura e proteína bruta do leite de tanque

A tabela 1 descreve os teores anuais médios de gordura e proteína bruta do leite por estado no período avaliado. O teor de gordura foi afetado por estado ($P < 0,01$), mas não pelo ano ($P = 0,12$), enquanto a interação ano*estado foi significativa ($P < 0,01$). O maior valor para teor de gordura foi observado para Santa Catarina (3,98%), seguido por Rio Grande do Sul (3,83%), Paraná (3,75%), Minas Gerais (3,63%), Goiás (3,62%) e São Paulo (3,61%). Existe uma diferença considerável entre o teor de gordura observado nos estados da região Sul e demais estados, provavelmente explicada por diferentes sistemas de produção adotados e raças utilizadas (CARVALHO et al., 2017). Apesar da aparente crescente valorização do teor de sólidos por parte da indústria, o teor médio de gordura do leite no país permaneceu inalterado no período avaliado. O único estado que não seguiu esse comportamento foi o Rio Grande do Sul, que registrou aumento no teor de gordura ao longo dos anos, com exceção de 2019. São Paulo e Goiás se revezaram como estados com menor teor de gordura no leite entre os anos avaliados.

O teor de proteína bruta foi afetado por estado ($P < 0,01$) e ano ($P < 0,01$), sendo a interação ano*estado também significativa ($P = 0,02$). O maior teor de proteína bruta foi encontrado no estado de Goiás (3,27), seguido por Santa Catarina (3,26), Minas Gerais e São Paulo (3,25), Rio Grande do Sul (3,24) e Paraná (3,23). O aumento do teor de proteína bruta observado no período avaliado ocorreu somente na região Sul, reduzindo as diferenças que existiam entre estados, que deixou de ser significativa em 2019. Houve aumento de 0,06 pontos percentuais no Paraná, de 2018 a 2020; aumento de 0,05 pontos percentuais em Santa Catarina,

de 2019 a 2020; e aumento de 0,09 pontos percentuais no Rio Grande do Sul, de 2015 a 2020. A evolução do teor de proteína bruta no leite de tanque da região Sul nos últimos anos do período avaliado pode indicar uma resposta dos produtores a um programa de maior valorização de proteína por parte da indústria.

Comparando o Brasil a outros países, o teor de gordura nacional médio de 2013 a 2020 foi de 3,73%, enquanto nos Estados Unidos (alta produção por vaca, predominância de confinamentos) foi de 3,87% (CDCB, 2021) e na Nova Zelândia (média produção por vaca, a pasto) foi de 4,74% (NZDS, 2020). Para teor de proteína bruta, no mesmo período de tempo, a média brasileira foi de 3,25%, enquanto nos Estados Unidos foi de 3,28% (CDCB, 2021) e na Nova Zelândia foi de 4,03% (NZDS, 2020). Levando em consideração também a produção de leite média em cada país, dados do IBGE (2017) mostram que a produção média no Brasil foi de 2.069 kg/vaca/ano, enquanto nos Estados Unidos foi de 12.830 (CDCB, 2021) e na Nova Zelândia foi de 4.353 kg/vaca/ano (NZDS, 2020). Considerando esses valores, a produção média de gordura no Brasil é de apenas 77,2 kg/vaca/ano, 6,4 vezes menor que a dos Estados Unidos e 2,7 vezes menor que a da Nova Zelândia, uma vez que a produção de gordura nestes países foi de 496,5 e 206,3 kg/vaca/ano, respectivamente. Para a produção de proteína bruta, a média brasileira foi 67,2 kg/vaca/ano, 6,3 vezes menor que a dos Estados Unidos e 2,6 vezes menor que a da Nova Zelândia, já que a produção de proteína bruta nestes países foi de 420,8 e 175,4 kg/vaca/ano, respectivamente.

Obviamente, existem enormes diferenças econômicas (inclusive em sistema de pagamento de leite), ambientais e culturais, bem como em genética e estratégias nutricionais adotadas em cada país que certamente definem os resultados aqui comparados. No entanto, de um ponto de vista de eficiência biológica e impacto ambiental da atividade leiteira, aumentar a produção de sólidos diários por vaca é extremamente desejável (VANDEHAAR et al., 2016), e os resultados aqui apresentados demonstram o grande potencial que a vaca média brasileira tem para evoluir como produtora de alimento.

3.2 Evolução da composição de leite individual

A tabela 2 apresenta a distribuição do número de observações de análise individual por estado. Do número total de observações, a maior parte correspondeu a Minas Gerais (66%) e São Paulo (20%). É válido salientar que o Instituto Clínica do Leite analisou mensalmente o leite de tanque de cerca de 60.000 fazendas no período avaliado, mas apenas 261 fazendas (0,44% do total) realizaram análise de leite individual consistentemente, o que demonstra o

enorme potencial de crescimento da ferramenta no país. A figura 1 mostra a localização geográfica das cidades inclusas no banco de dados avaliado, sendo que a maioria das cidades estavam localizadas em Minas Gerais (59%) e São Paulo (28%).

A figura 2 apresenta a caracterização dos resultados para teor de gordura, teor de proteína bruta, caseína e NUL por fazenda, considerando todo o período avaliado. Como esperado, por responderem mais a intervenções nutricionais e de manejo, as concentrações de gordura e NUL apresentaram maior variação entre fazenda que os teores de proteína bruta e caseína. Do ponto de vista biológico, grandes diferenças existem entre os percentis de fazendas para todos os componentes do leite avaliados. Estes resultados podem funcionar como *benchmarking* para produtores e nutricionistas, desde que as particularidades de cada fazenda (sistema de produção, raça e produção de leite média, por exemplo) sejam consideradas na definição de metas.

A figura 3 relata a evolução da composição do leite individual, de 2017 a 2020, utilizando o banco de dados completo. Os teores de gordura (+0,13), proteína bruta (+0,08) e caseína (+0,09) aumentaram ($P < 0,01$) consideravelmente de 2017 a 2020, além de uma redução no ECCS linear (-0,16) ter sido observada. Por outro lado, o NUL aumentou em 2019 e 2020 ($P < 0,01$), chegando a 14,20 mg/dL no último ano, aumentando ($P < 0,01$) o indicador NUL/proteína (+0,06), o que sugere uma redução na eficiência de uso do nitrogênio pelas vacas (WATTIAUX, 2018). O valor médio de NUL observado em 2020 é, inclusive, maior que o valor máximo de 14 mg/dL normalmente sugerido para este parâmetro no Brasil (ALMEIDA, 2012; DANÉS e ANDRADE, 2017).

A figura 4 apresenta os mesmos parâmetros que a figura 3, levando em consideração somente as fazendas localizadas em Minas Gerais. O comportamento dos componentes do leite neste estado foi muito similar ao observado com o banco de dados completo, o que era esperado, uma vez que 66% das observações correspondiam a Minas Gerais. Os teores de gordura (+0,18), proteína bruta (+0,07) e caseína (+0,06) aumentaram ($P < 0,01$) no período avaliado e uma redução no ECCS linear (-0,21; $P < 0,01$), um pouco mais expressiva que a observada com o banco de dados completo, ocorreu. No entanto, o aumento de NUL (+0,72; $P < 0,01$) em Minas Gerais foi maior e impactou mais a relação NUL/proteína (+0,13; $P < 0,01$)

A figura 5 mostra a evolução dos resultados de fazendas localizadas em São Paulo, aonde o comportamento dos componentes do leite foi um pouco diferente. O teor de gordura manteve-se constante, enquanto os teores de proteína bruta (+0,12) e caseína (+0,11)

aumentaram ($P < 0,01$) e o ECCS linear reduziu levemente ($-0,06$; $P < 0,01$). Os valores de NUL neste estado apresentaram valores maiores em 2017 e 2020 do que em 2018 e 2019. No entanto, considerando o aumento no teor de proteína bruta do leite, uma redução no indicador NUL/proteína ($-0,15$; $P < 0,01$) foi observada entre 2017 e 2020, sugerindo uma leve melhoria na eficiência de uso do nitrogênio (WATTIAUX, 2018).

A relação gordura/proteína do leite funciona bem como um indicador de balanço energético em vacas leiteiras, em que valores mais baixos, desde que maiores que 1, indicam maior balanço energético positivo (GLATZ-HOPPE et al., 2020). É interessante notar que, em média, os resultados de análise individual possuem menor teor de gordura e maior teor de proteína bruta que o leite de tanque e, portanto, menor relação gordura/proteína. Este fato pode indicar que as fazendas que monitoraram a composição do leite individual conseguem ajustar melhor o aporte energético da dieta, quando comparadas com a média nacional.

4. CONCLUSÃO

Não ocorreu mudança no teor de gordura do leite de tanque no Brasil, enquanto uma leve evolução ocorreu no teor de proteína bruta do leite de tanque apenas para os estados da região Sul. Esses resultados sugerem que programas de bonificação que valorizam o teor de sólidos do leite ainda não foram implementados com sucesso a nível nacional. Fazendas que realizaram análise individual consistentemente foram capazes de melhorar a qualidade do leite, uma vez que aumentaram o teor de sólidos e reduziram o ECCS linear.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, R. Nitrogênio ureico no leite como ferramenta para ajuste de dietas. **Leite Integral**. 2012. Disponível em: <<https://www.revistaleiteintegral.com.br/noticia/nitrogenio-ureico-no-leite-como-ferramenta-para-ajuste-de-dietas---parte-i>>. Acesso em 21/01/2022.
- CARVALHO, G. R. Mudanças da produção leiteira na geografia brasileira: o avanço do Sul. **Agropecuária Catarinense**, v. 30, n. 2, p. 13-16, 2017.
- CARVALHO, G.R; CHAVES, D.O; ROCHA, D. T. Pagamento por volume: um desafio para pequenos produtores de leite. **Milkpoint**. 2021. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/noticias-e-mercado/panorama-mercado/diferencial-de-precos-por-volume-um-desafio-para-os-pequenos-produtores-224695/>>. Acesso em: 21/01/2022.
- CDCB. Genetic and phenotypic trend. 2021. Disponível em: <<https://queries.uscdcb.com/eval/summary/trend.cfm>>. Acesso em 21/01/2022.
- CEPEA. Leite ao produtor CEPEA/ESALQ (R\$/litro) – Líquido. 2022. Disponível em <<https://www.cepea.esalq.usp.br/br/indicador/leite.aspx>>. Acesso em 21/01/2022.
- DANÉS, M. A. C; ANDRADE, A. F. M. S. R. E. Nutrição de precisão: como o NUL pode ajudar na formulação de dietas mais precisas? **Milkpoint**. 2017. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/colunas/marina-danes/nutricao-de-precisao-como-o-nul-pode-ajudar-na-formulacao-de-dietas-mais-precisas-103999n.aspx>>. Acesso em 21/01/2022.
- GLATZ-HOPPE, J. et al. Relationship between milk constituents from milk testing and health, feeding, and metabolic data of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 11, p. 10175-10194, 2020.
- MAPA. Observatório da qualidade do leite. 2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animais/qualidade-do-leite-pnq>>. Acesso em 21/01/2022.
- NZDS. New Zealand Dairy Statistics 2019-20. 2021. Disponível em: <https://www.clal.it/upload/NZ_Dairy_Statistics_2019-20_WEB_FINAL.pdf>. Acesso em 21/01/2022.
- SIQUEIRA, K. B. O mercado consumidor de leite e derivados. **EMBRAPA**. 2019.
- VANDEHAAR, M. J. et al. Harnessing the genetics of the modern dairy cow to continue improvements in feed efficiency. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 6, p. 4941-4954, 2016.
- WATTIAUX, M. A. 2018. Milk urea-N yield (muny) as a nutritional and environmental management tool for the dairy industry. **United States Patent**, US 9,955,673 B1.

Tabela 1. Comparação anual dos teores de gordura e proteína bruta do leite de tanque, por estado. Letras maiúsculas comparam os resultados entre anos (horizontal), enquanto letras minúsculas comparam os resultados entre estados (vertical) (Tukey, $P \leq 0,05$).

Estado	Ano								Média ¹
	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	
Gordura, %									
MG	3,64 d	3,63 d	3,63 d	3,63 d	3,65 d	3,64 d	3,64 d	3,62 d	3,63 d
SP	3,61 e	3,60 e	3,58 e	3,60 e	3,61 e	3,60 e	3,62 de	3,62 d	3,61 d
GO	3,62 de	3,59 e	3,61 de	3,61 de	3,64 d	3,61 de	3,60 e	3,59 e	3,62 d
PR	3,74 c	3,74 c	3,76 c	3,76 c	3,75 c	3,73 c	3,74 c	3,76 c	3,75 c
SC	4,01 a	3,99 a	3,99 a	3,99 a	3,97 a	3,96 a	3,95 a	3,98 a	3,98 a
RS	3,80 b D	3,83 b C	3,83 b C	3,85 b B	3,84 b B	3,84 b B	3,80 b D	3,88 b A	3,83 b
Média²	3,74	3,73	3,73	3,74	3,74	3,73	3,73	3,74	
Proteína bruta, %									
MG	3,25 ab	3,24	3,25	3,23	3,25 ab	3,24 ab	3,26	3,27	3,25 b
SP	3,23 ab	3,24	3,25	3,22	3,25 ab	3,24 ab	3,27	3,26	3,25 b
GO	3,27 a	3,25	3,26	3,26	3,29 a	3,28 a	3,28	3,29	3,27 a
PR	3,22 ab C	3,23 BC	3,21 C	3,21 C	3,22 b C	3,22 b C	3,25 B	3,28 A	3,23 c
SC	3,26 ab B	3,24 B	3,24 B	3,25 B	3,24 ab B	3,26 ab B	3,26 B	3,31 A	3,26 ab
RS	3,21 b B	3,21 B	3,21 B	3,23 B	3,23 b B	3,26 ab A	3,28 A	3,30 A	3,24 bc
Média²	3,24 C	3,23 C	3,24 C	3,23 C	3,25 BC	3,25 B	3,27 AB	3,28 A	

¹Teor de gordura e proteína bruta do leite média por estado considerando todo o período de avaliação.

²Teor de gordura e proteína bruta do leite por ano considerando todos os estados.

Tabela 2. Número de observações, cidades, fazendas e vacas disponíveis por estado (janeiro de 2017 a agosto de 2021) para resultados de análise individual.

Estado	n° obs.	Municípios	Fazendas	n° vacas
CE	20642	2	4	4078
DF	1324	1	1	363
ES	7943	3	7	1005
GO	12051	6	11	1005
MG	406556	81	173	38178
PR	40863	4	8	2442
SE	2680	2	2	570
SP	122798	39	55	10232
Total	614857	138	261	57706

Figura 1. Localização geográfica das cidades com resultados de análise de leite individual disponíveis.

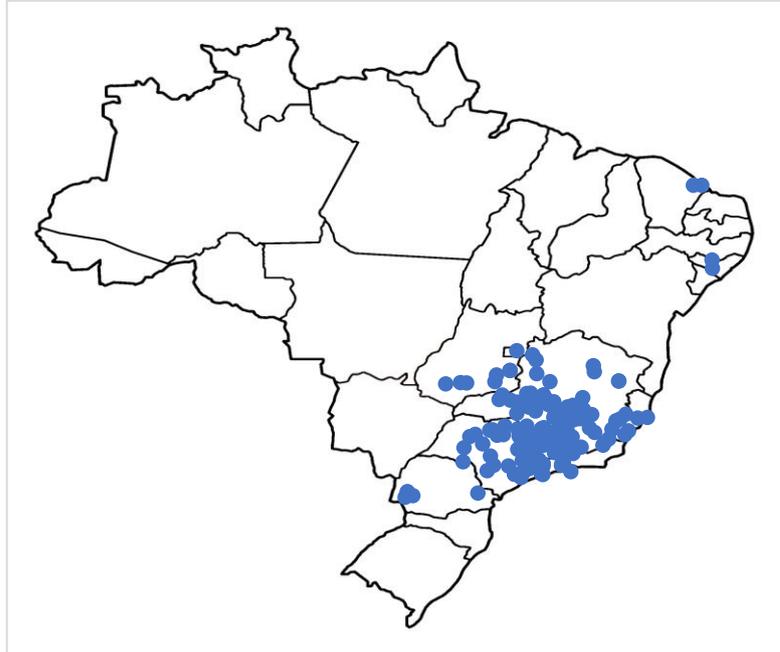


Figura 2. Distribuição do teor de gordura, proteína bruta, caseína e NUL por fazenda (amostras de leite individual analisadas de janeiro de 2015 a agosto de 2021. Dados provenientes de 53741 vacas em 261 fazendas). Os números acima de cada coluna indicam a quantidade de fazendas por estrato do componente do leite.

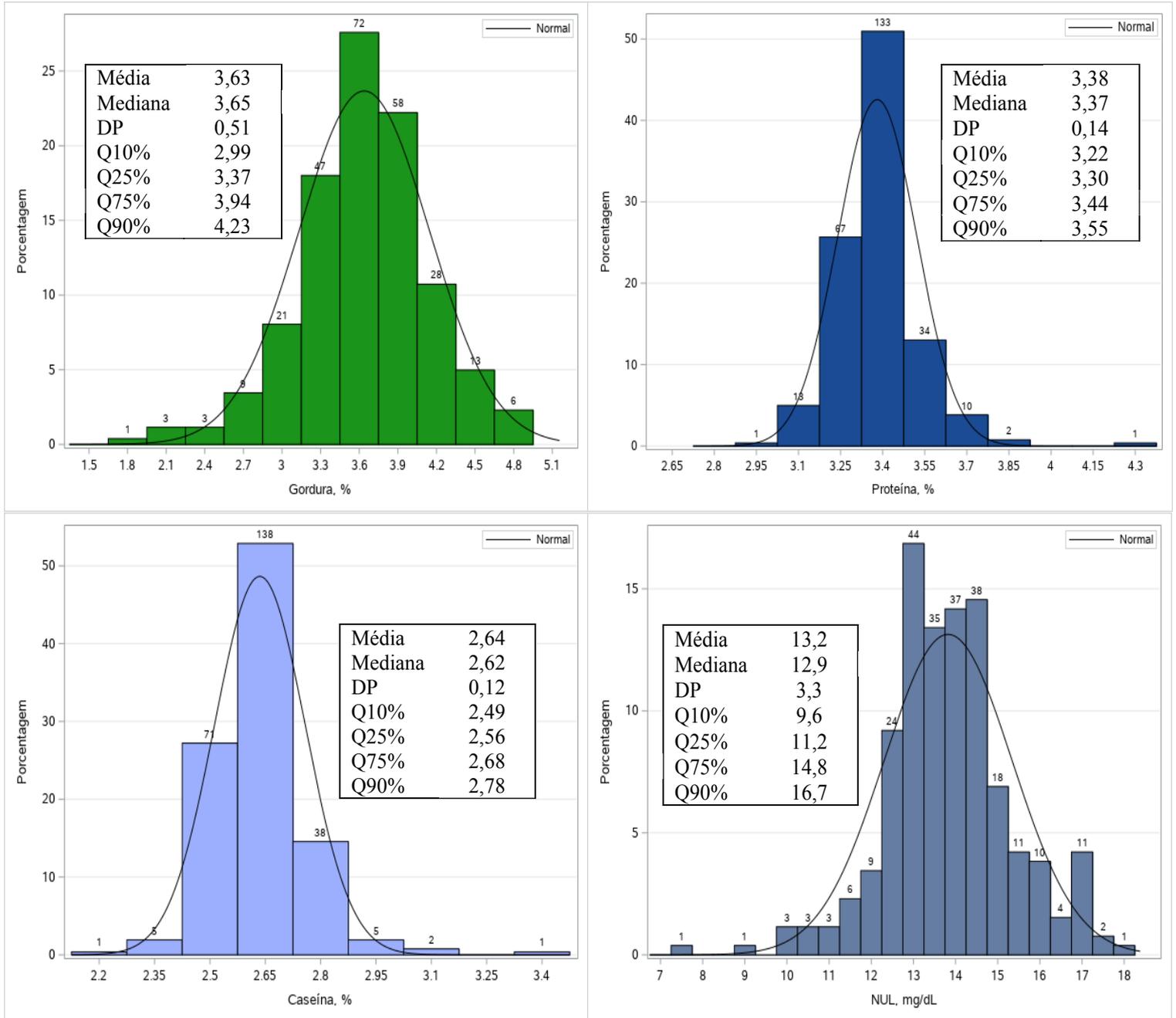


Figura 3. Evolução da composição do leite individual de 2017 a 2020, utilizando banco de dados completo (518692 observações em 138 municípios, 261 fazendas e 53741 vacas). Letras diferentes indicam diferença estatística ($P \leq 0,05$) pelo teste Tukey.

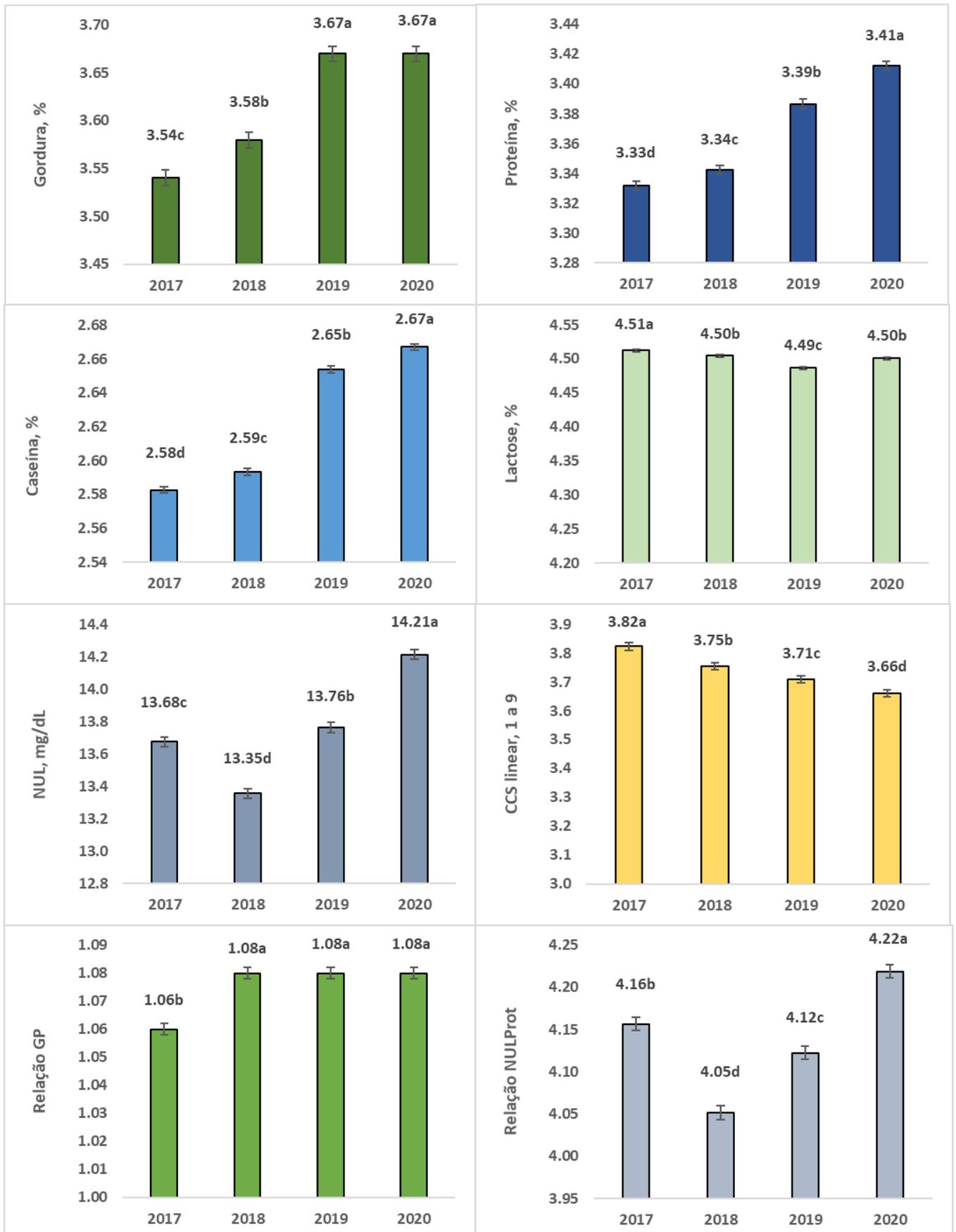


Figura 4. Evolução da composição do leite individual de 2017 a 2020 em Minas Gerais (343813 observações em 81 municípios, 173 fazendas e 35619 vacas). Letras diferentes indicam diferença estatística ($P \leq 0,05$) pelo teste Tukey.

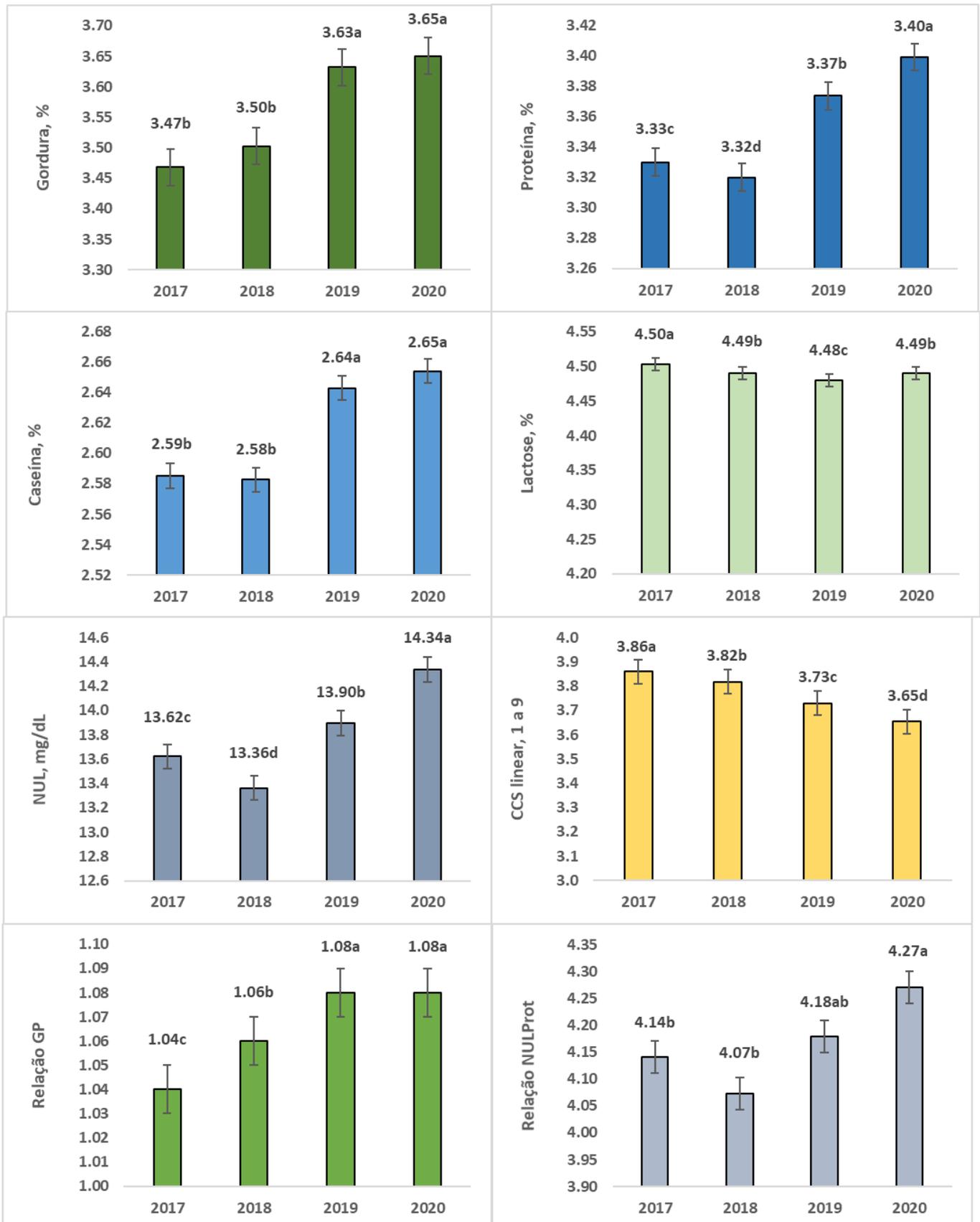
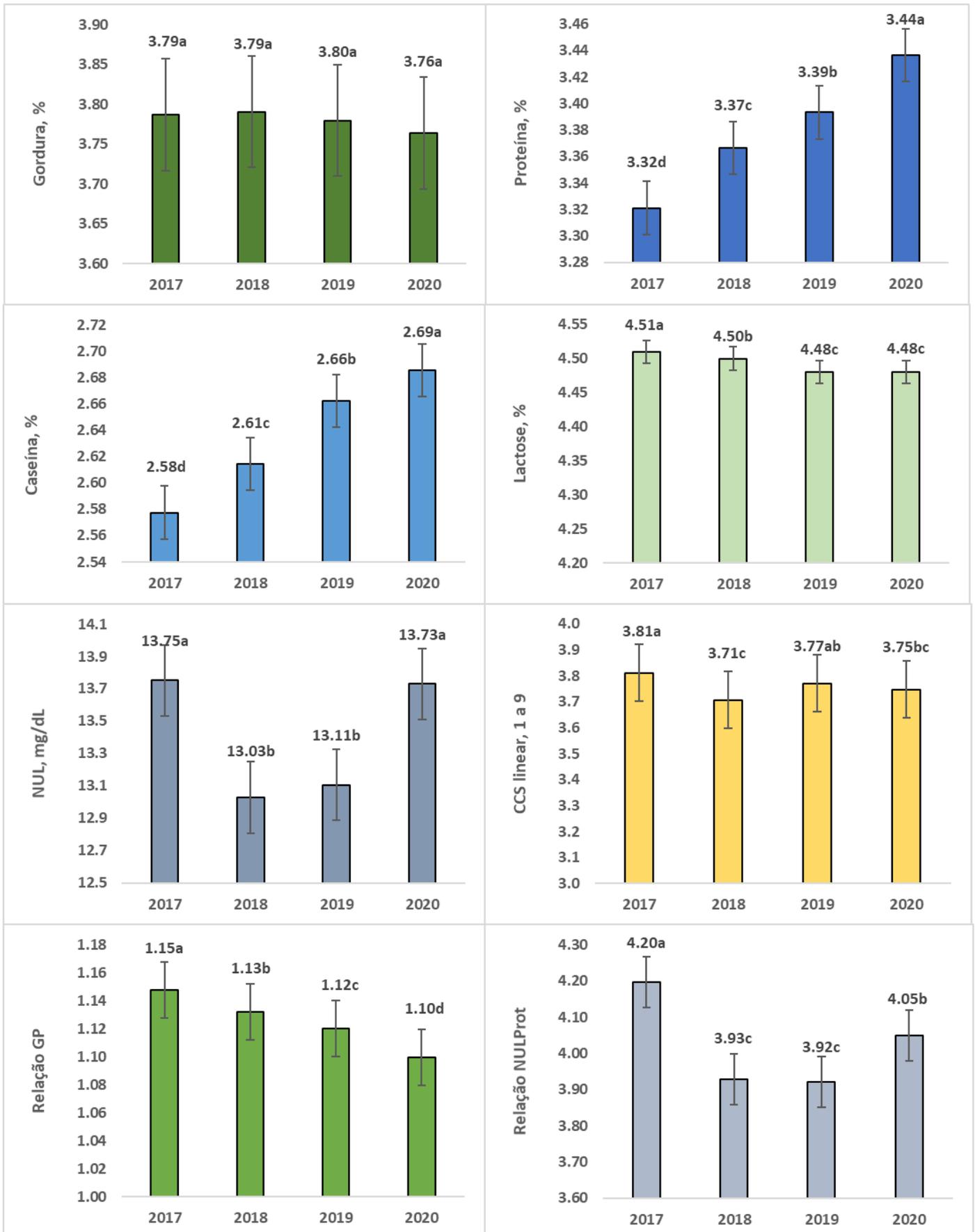


Figura 5. Evolução da composição do leite individual de 2017 a 2020 em São Paulo (103776 observações em 38 municípios, 54 fazendas e 9519 vacas). Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).



ARTICLE 2 – ANNUAL RHYTHMS OF MILK FAT AND PROTEIN CONCENTRATIONS IN BRAZIL

1. INTRODUCTION

The effect of season of the year on milk composition has been known for a long time, as fat and protein contents are consistently higher in autumn and winter (WOOD, 1970; TEIXEIRA et al., 2003; ROMA JÚNIOR et al., 2009). Traditionally, variations in milk fat and protein content throughout the year are attributed to nutritional changes (forage quality, for example) and the occurrence of heat stress. However, recent work carried out in the United States indicates that the fat and protein contents of milk follow a circannual biological rhythm, probably determined by the length of the day (SALFER et al., 2019; SALFER et al., 2020).

In these studies (SALFER et al., 2019; SALFER et al., 2020), data from bulk tank and individual milk composition were used to quantify the effects of this rhythm through a technique called cosinor, frequently applied in rhythmometric analysis (BOURDON et al., 1995). It was possible to verify that the milk fat and protein contents align with the solstices of the year (the shorter the day length, the higher the milk solids content) (SALFER et al., 2019). Changes in milk composition throughout the year seem to exist regardless of the occurrence of heat stress, since they happen slowly and quite consistently over the years evaluated (SALFER et al., 2019). From a practical standpoint, the existence of the rhythm should be considered when evaluating the results obtained on dairy farms. The effect of changes in management or diet on milk solids (and even in milk and milk solids production) can be attenuated or amplified, depending on the month of the year in which changes are made.

However, there are no publications using the cosinor technique to quantify this rhythm in the South hemisphere. Therefore, the objective of this study was to evaluate the occurrence of a circannual biological rhythm in fat and protein contents of milk produced in Brazil. Data from bulk tank samples from the six largest milk producing states in the country (Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo and Goiás), compiled by the Observatório da Qualidade do Leite (MAPA, 2021) and data from individual milk samples (Minas Gerais and São Paulo), obtained from Instituto Clínica do Leite (Piracicaba, São Paulo, Brazil), were used. We hypothesize that there is a circannual rhythm in the composition of milk produced in Brazil, with an inversed shape of the curve observed in the North hemisphere.

2. MATERIAL AND METHODS

The monthly levels of fat and crude protein in bulk tank milk in the six largest milk producing states in Brazil (about 280,000 tanks in Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo and Goiás), for the period of 2013 to 2020, were obtained from the Observatório da Qualidade do Leite (MAPA, 2021). These data represent all the formal milk produced in the six states over the period evaluated.

The fat and crude protein contents of individual milk, from 2017 to 2020, were extracted from the Instituto Clínica do Leite database. Only farms that sent individual milk samples consistently (minimum quarterly frequency) were included in the analysis. Most (86%) of the individual analysis observation in the dataset referred to Minas Gerais and São Paulo, so only these two states were included in the analysis. Observations without correct cow identification, fat content < 1 or $> 9\%$, crude protein content < 1 or $> 7\%$ and which contained only SCC data were removed. There remained 406,556 observations of 38,178 cows on 171 farms for Minas Gerais and 122,798 observations of 10,232 cows on 55 farms for São Paulo. Monthly individual milk fat and crude protein contents, by state, were calculated using the SAS Studio MIXED procedure, since results for all farms were not available in all evaluated months. The statistical model included month as fixed effect and farm as random effect. Degrees of freedom were estimated using Satterthwaite's method and the best covariance structure was defined by Akaike's information criterion.

The monthly levels of milk fat and crude protein (bulk tank and individual) were adjusted to a linear form of the cosine function for each 12-month period using a spreadsheet developed in Excel (Microsoft Corporation, Redmon, WA), according to BOURDON et al., (1995). This method was developed to verify the existence of biological rhythms, adjusting the data with the following equation: $y = M + A \times \sin(\omega \times t + \theta)$, where y is the value of the variable measured at time t , M is the average value of the entire cycle, A is the amplitude of the sine curve for each side of M (half the difference between the largest and smallest calculated value), ω is the angular frequency ($2\pi/N$, where N is the number of units in a complete cycle, that is, $2 \times 3.14/12$ in an annual rhythm), θ is the phase expressed in trigonometric units and $A\theta$ is the acrophase (time of the cycle when the highest value occurs). Subsequently, the data were submitted to the SAS Studio MIXED procedure, separated by type of analysis (bulk tank or individual). The statistical model tested the random effect of year and the fixed effects of state, the linear form of the cosine function with a period of 12 months and the interaction between state and the linear form of the cosine function. Also using the MIXED procedure, the Akaike's

information criterion was used to verify if the fit obtained with the linear form of the cosine function was better than the fit using the month of the year (linear, quadratic or cubic effects). The coefficient of determination (R^2) between milk component and cosine function or month of the year (linear, quadratic or cubic) was also calculated using the GLM procedure.

3. RESULTS

For all states evaluated, at both bulk tank and individual milk levels, the fit obtained by the linear form of the cosine function, by the Akaike's information criterion and by the coefficient of determination, was significant ($P < 0.001$) and superior to the fit by month of the year (linear, quadratic or cubic). The interaction between state and annual linear form of the cosine function was significant ($P < 0.05$) for milk fat and crude protein contents in bulk tank and individual results; thus, the mean, amplitude and acrophase for each state were compared (Tables 1 and 2) and figures representing the annual rhythm separated by state were created (Figures 1 and 2).

The table 1 shows the mean, amplitude and acrophase of a cosine function with an annual rhythm fit to the state monthly averages of bulk tank milk fat and crude protein content. A considerable difference of 0.37 percentual points occurred for milk fat content between Santa Catarina and Goiás. The highest mean fat content was observed for the state of Santa Catarina, followed by Rio Grande do Sul, Paraná, Minas Gerais, São Paulo and Goiás. The amplitude of the rhythm ranged from 0.16 to 0.20, with the highest value noted in São Paulo and Goiás, with an intermediate value in Minas Gerais and lowest values for Paraná, Santa Catarina and Rio Grande do Sul. There were no differences for acrophase in milk fat content between states, which always occurred in May.

Despite the small biological difference (only 0.04 percentual points), the highest mean crude protein content was observed for the state of Goiás, while the lowest content occurred for the state of Paraná; the highest amplitudes (ranged from 0.09 to 0.11) were observed in Minas Gerais, São Paulo and Goiás, with an intermediate value in Rio Grande do Sul and lower values for Paraná and Santa Catarina. For milk crude protein content, the acrophase for Minas Gerais, São Paulo, Goiás and Paraná took place in May, while for Santa Catarina and Rio Grande do Sul it occurred in June.

The table 2 shows the mean, amplitude and acrophase of a cosine function with an annual rhythm fit to the state monthly averages of individual milk fat and crude protein content.

For milk fat content, Minas Gerais presented a lower average (- 0.18 percentage points) and greater amplitude (+ 0.05 percentage points) than the state of São Paulo, in addition to a later acrophase, in May, while in São Paulo it occurred in April. For milk crude protein content, a difference was observed only for acrophase, which in Minas Gerais occurred in June and in São Paulo was observed in May.

4. DISCUSSION

The objective of this work was to verify the occurrence of a circannual biological rhythm in the fat and crude protein contents of milk produced in Brazil, since there are still no studies characterizing this rhythm in the southern hemisphere. The use of the cosinor technique allowed the quantification of the annual rhythm using data from bulk tank and individual milk analysis.

Seasonal variation in milk composition has long been known in the dairy industry. Traditionally, changes in milk fat and protein content throughout the year are attributed to nutritional changes (PALMQUIST et al., 1993) and heat stress. However, recent studies conducted in the United States used rhythmometric analysis tools and found evidence that milk fat and protein contents follow an endogenous circannual pattern, probably determined by the variation in day length (photoperiod) that occurs throughout the year, regardless of the occurrence of nutritional changes and heat stress (SALFER et al., 2019; SALFER et al., 2020). In these reports, researchers observed that the highest levels of milk fat and protein content in the United States occurs in December and January, aligning with the shortest day of the year (winter solstice, December 21 in the northern hemisphere). Evolutionarily, it makes sense that milk has higher solids content in the colder months of the year, as the calf's energy demands are higher in winter (NASEM, 2021)

In the present work, the highest levels of fat and crude protein in milk in Brazil occurred from April to June, also close to the winter solstice in the southern hemisphere (June 21), consistent with the results already published for the northern hemisphere. Considering only bulk tank milk results, the amplitudes observed were higher for fat content (0.16 to 0.20 percentage units) and very close for protein content (0.09 to 0.11), when compared to the amplitudes for fat content (0.07 to 0.14) and protein content (0.08 to 0.12) observed by SALFER et al., (2019). The greater amplitude in the fat content of bulk tank milk in Brazil is probably explained by a greater variation in forage quality and nutritional strategy adopted throughout the year in the country. To support this claim, the range for individual milk fat

content (0.05 to 0.10), produced by a population of farms that presumably adopt the use of TMR more consistently, was smaller.

Although the databases used do not allow the separation of day length effects from possible nutritional influences and changes in temperature and relative air humidity, the slow and gradual variation of solids contents observed throughout the year can be considered evidence in favor of the influence of photoperiod on milk composition. As pointed out by SALFER et al. (2019), more abrupt changes in fat and protein contents would be expected if the cause was exclusively nutrition and heat stress. Furthermore, the effects of heat stress on milk fat content reported in the literature are controversial. Five studies consulted suggest that the drop in milk production (-7.98 kg/day, on average), normally observed with the occurrence of heat stress, may be proportionally greater to the drop in fat production, resulting in an increase in the content of this component in the milk (+0.30%, on average; RHOADS et al., 2009; SCHWARTZ et al., 2009; WHEELCOK et al., 2010; BAUMGARD et al., 2011; RUNGRUANG et al., 2014). Following this direction, if heat stress were the main responsible for altering milk composition throughout the year, higher values for fat content would be expected in the hot months (October to March).

Beyond that, SALFER et al. (2020), using milk fat and protein concentrations obtained in herds from four regions of the United States, compared the fit obtained with the model including the linear form of the cosine function to the fit obtained by the model when environmental temperature variations were considered and found better results for the cosine function, except for the state of Florida. The authors argue that cows in this state are closer to the equator and, therefore, a smaller day length effect and a greater temperature effect is expected.

Unexpectedly, in our results the amplitudes observed for fat and crude protein content of tank milk were higher in states closer to the equator (Goiás, Minas Gerais and São Paulo) and lower for states with greater latitude (Paraná, Santa Catarina and Rio Grande do Sul). This behavior, similar to that observed in Florida by SALFER et al. (2020), does not follow the logic of day length on milk composition and reinforces the influence that more factors, such as differences in production system, forage quality and heat stress may have exerted.

However, the fact that the linear form of the cosine function explains very well ($P < 0.0001$ and $R^2 \geq 0.88$) the variation in milk fat and protein contents throughout the year in all evaluated states, considering data from tank and individual milk, in a country where different

production systems are adopted, strongly evidences the existence of an endogenous circannual rhythm that governs the solids contents of milk.

5. CONCLUSION

The cosinor fit was significant ($P < 0.01$) across all analysis, demonstrating the existence of circannual rhythm affecting milk solids concentration in Brazil, as previously observed in the United State, with an inversed shape of the curve, as expected. This rhythm should be considered by dairy farmers and nutritionists when setting targets for milk components throughout the year. Further work should focus on the characterization of the rhythm in milk solids production and the influence of environmental factors (i. e. temperature).

REFERENCES

- BAUMGARD, L. H. et al. Postabsorptive carbohydrate adaptations to heat stress and monensin supplementation in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 11, p. 5620-5633, 2011.
- BOURDON, L. et al. Use of a spreadsheet program for circadian analysis of biological/physiological data. **Aviation, space, and environmental medicine**, v. 66, n. 8, p. 787-791, 1995.
- MAPA. **Observatório da qualidade do leite**. 2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/qualidade-do-leite-pnq>>. Acesso em 21/01/2022.
- NASEM. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Eighth Revised Edition**. 2021. Washington, DC: The National Academies Press.
- PALMQUIST, D. L et al. Feed and animal factors influencing milk fat composition. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 6, p. 1753-1771, 1993.
- RHOADS, M. L. et al. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 5, p. 1986-1997, 2009.
- ROMA JÚNIOR, L. C. et al. Sazonalidade do teor de proteína e outros componentes do leite e sua relação com programa de pagamento por qualidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p. 1411-1418, 2009.
- RUNGRUANG, S. et al. A dose-response evaluation of rumen-protected niacin in thermoneutral or heat-stressed lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 8, p. 5023-5034, 2014.
- SALFER, I. J. et al. Annual rhythms of milk and milk fat and protein production in dairy cattle in the United States. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 1, p. 742-753, 2019.
- SALFER, I. J. et al. Annual rhythms of milk synthesis in dairy herds in 4 regions of the United States and their relationships to environmental indicators **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 4, p. 3696-3707, 2020.
- TEIXEIRA, N.M. et al. Influência de fatores de meio ambiente na variação mensal da composição e contagem de células somáticas do leite em rebanhos no Estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, p.491-499, 2003.
- WHEELOCK, J. B. et al. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 2, p. 644-655, 2010.
- WOOD, P. D. P. The relationship between the month of calving and milk production. **Animal Science**, v. 12, n. 2, p. 253-259, 1970.

Table 1. Mean, amplitude and acrophase of a cosine function with an annual rhythm fit to the state monthly averages (January 2013 to December 2020) of bulk tank milk fat and crude protein content.

Milk component, %	State	Mean, %	Amplitude ¹ , %	Acrophase ² , month	P-value ³
Fat	Minas Gerais	3.63d	0.17b	May	< 0.0001
	São Paulo	3.61d	0.20a	May	< 0.0001
	Goiás	3.61d	0.20a	May	< 0.0001
	Paraná	3.75c	0.16c	May	< 0.0001
	Santa Catarina	3.98a	0.16c	May	< 0.0001
	Rio Grande do Sul	3.83b	0.16c	May	< 0.0001
Crude protein	Minas Gerais	3.25ab	0.11a	May	< 0.0001
	São Paulo	3.25ab	0.11a	May	< 0.0001
	Goiás	3.27a	0.11a	May	< 0.0001
	Paraná	3.23b	0.09c	May	< 0.0001
	Santa Catarina	3.26ab	0.09c	June	< 0.0001
	Rio Grande do Sul	3.24ab	0.10b	June	< 0.0001

a-d Values in the same column with different letters differ ($P < 0.05$, Tukey). ¹Distance from mean to peak of the annual rhythm. ²Month at peak of milk component at the annual rhythm. ³P-value corresponding to the fit of the annual rhythm using the linear form of the cosine function.

Table 2. Mean, amplitude and acrophase of a cosine function with an annual rhythm fit to the state monthly averages (January 2017 to December 2020) of individual milk fat and crude protein content.

Milk component, %	State	Mean, %	Amplitude ¹ , %	Acrophase ² , month	P-value ³
Fat	Minas Gerais	3.69b	0.10a	May	< 0.0001
	São Paulo	3.87a	0.05b	April	< 0.0001
Crude protein	Minas Gerais	3.34	0.06	June	< 0.0001
	São Paulo	3.36	0.06	May	< 0.0001

a-d Values in the same column with different letters differ ($P < 0.05$, Tukey). ¹Distance from mean to peak of the annual rhythm. ²Month at peak of milk component at the annual rhythm. ³P-value corresponding to the fit of the annual rhythm using the linear form of the cosine function.

Figure 1. Results of the adjustment by the linear form of the cosine function by state for fat and crude protein contents of bulk tank milk (January 2013 to December 2020). Lighter lines show the actual observed values, while darker lines show the calculated values by cosinor technique. In the caption, P value, M (mesor), A (amplitude) and $A\theta$ (acrophase) are the parameters calculated by cosinor, while R^2 indicates the relation between observed and calculated values.

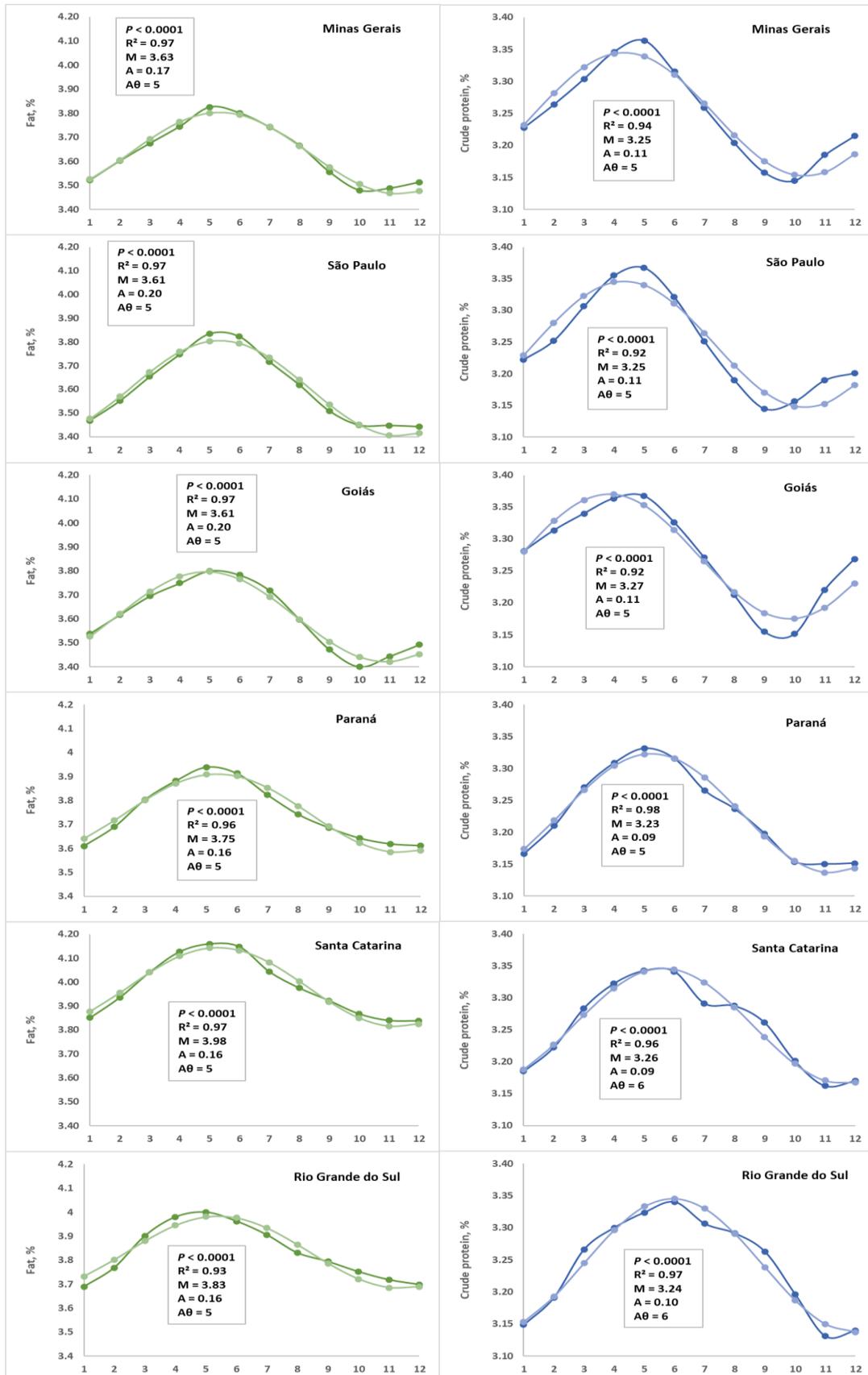
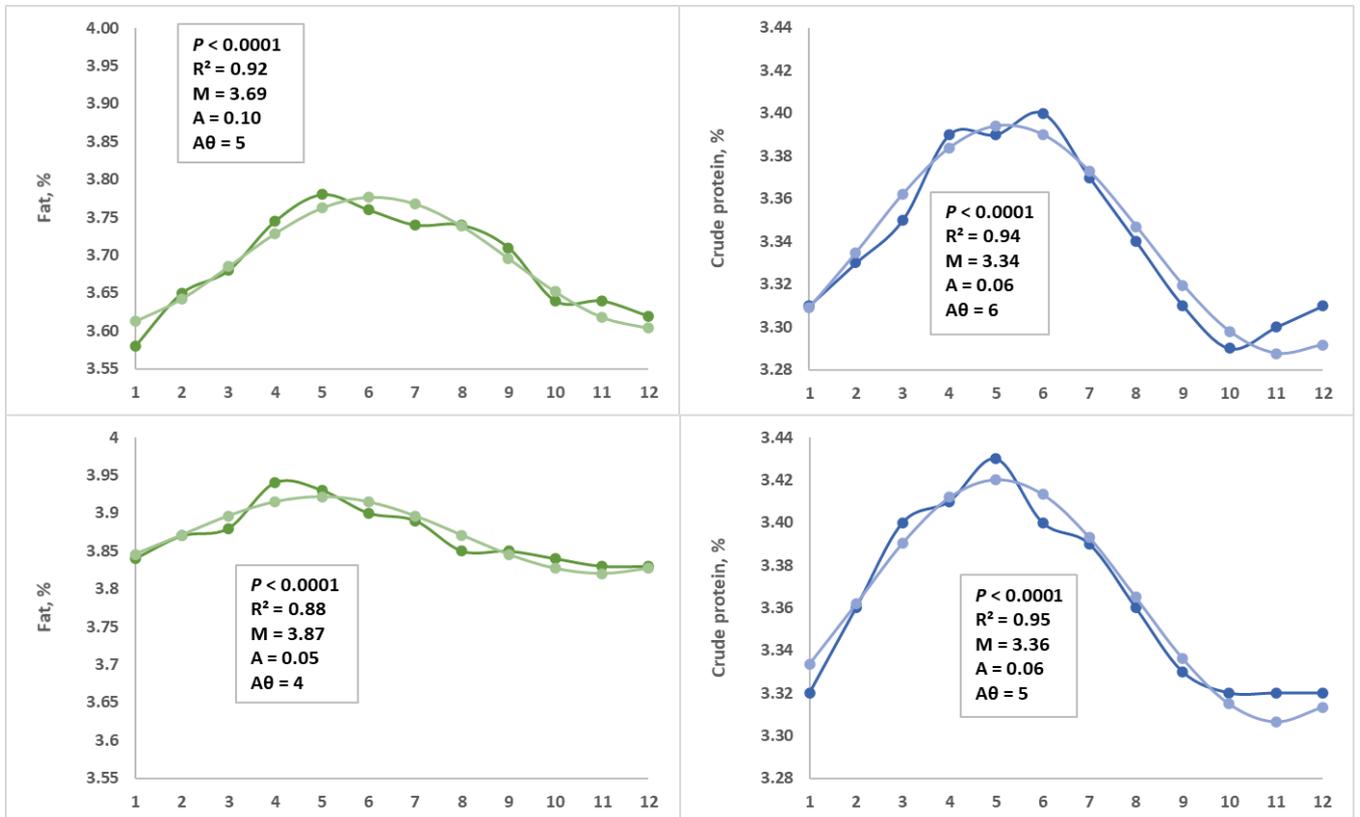


Figure 2. Results of the adjustment by the linear form of the cosine function by state for fat and crude protein contents of individual milk (January 2017 to December 2020). Lighter lines show the actual observed values, while darker lines show the calculated values by cosinor technique. In the caption, P value, M (mesor), A (amplitude) and $A\theta$ (acrophase) are the parameters calculated by cosinor, while R^2 indicates the relation between observed and calculated values.



ARTIGO 3 – TEORES DE GORDURA E PROTEÍNA DO LEITE INDIVIDUAL COMO FERRAMENTA DE MONITORAMENTO NUTRICIONAL

1. INTRODUÇÃO

A composição do leite é resultado do consumo de nutrientes e do metabolismo da vaca leiteira, sendo afetada por fatores genéticos, fisiológicos, nutricionais e ambientais. A nutrição oferece o meio mais rápido e efetivo para atuar sobre os teores de gordura e proteína do leite (SANTOS, 2002), podendo causar alterações de até 3,0 pontos percentuais em gordura e 0,6 pontos percentuais em proteína (LOOPER, 2012), sendo estes os componentes mais valorizados pela indústria. Devido ao alto impacto da nutrição sobre o desempenho leiteiro, o monitoramento da composição do leite é utilizado nas tomadas de decisões nutricionais em fazendas. A composição do leite de tanque é útil para detectar problemas mais gerais, que afetam o rebanho como um todo. O acompanhamento dos níveis de gordura e proteína do leite do tanque, por exemplo, pode direcionar o balanceamento entre amido e fibra na dieta.

No entanto, à medida que animais com maior produção de leite são selecionados, o desafio metabólico enfrentado por cada vaca do rebanho aumenta. Tal fato, aliado à uma preocupação crescente em aumentar a precisão na formulação de dietas, cria demanda por um monitoramento cada vez mais intenso da vaca lactante. A análise de leite individual oferece oportunidades interessantes neste sentido (GLATZ-HOPPE et al., 2020), por ser uma forma de coletar dados não invasiva, de relativo baixo custo e fácil acesso. Apesar destas vantagens, a utilização sistemática da composição do leite como ferramenta de manejo nutricional é ainda abstrata e subutilizada por fazendas brasileiras. Dos produtores que enviam mensalmente amostras de leite individual ao maior laboratório do país (Instituto Clínica do Leite – Piracicaba, São Paulo, Brasil) para análise de contagem de células somáticas (CCS), apenas 30 a 40% também solicitam análise de sólidos e nitrogênio ureico do leite (NUL).

Parte desta baixa utilização pode ser explicada pela falta de clareza dos resultados esperados para a composição do leite, tendo em vista o histórico brasileiro de baixa valorização do teor de sólidos. Além disso, como diversos fatores não nutricionais também afetam a composição do leite, utilizar a informação obtida pela análise de leite individual na formulação de dietas e na avaliação do manejo nutricional pode ser complexo. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi realizar uma análise exploratória para avaliar como a composição do leite se relaciona com características das vacas, variáveis nutricionais e de manejo alimentar e

identificar associações com potencial de se transformarem em futuras ferramentas de monitoramento de nutrição e manejo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do experimento e duração

O experimento foi conduzido na Fazenda Palmital (Ijaci, Minas Gerais, Brasil), de 01/08/2020 a 10/03/2021, em um *free stall* com camas de areia e aspersores na linha de cocho, que foram ativados quatro vezes por dia, por cinco minutos. Dois lotes de vacas em lactação, divididas em múltiparas (LM) e primíparas (LP), foram monitorados durante 12 períodos. A duração média dos períodos foi de 18 dias, sendo determinada pela disponibilidade de transporte das amostras de leite para o laboratório. O LM teve, em média \pm DP, $18 \pm 1,4$ vacas e o LP teve $25 \pm 1,5$ vacas, que geraram 513 observações individuais. Sessenta e sete vacas passaram pelos dois lotes durante o experimento.

2.2 Mensurações, manejo alimentar e procedimentos analíticos

As vacas foram pesadas mensalmente após a ordenha da manhã. As ordenhas foram realizadas duas vezes por dia, às 04:00 e às 15:30 horas, em sala adjacente ao *free stall*. No último dia de cada período, foram coletadas amostras de leite individual separadas por ordenha da manhã e da tarde. Os fracos de amostragem continham conservante 2-bromo-2-nitropropano-1-3-diol. As amostras de leite foram enviadas ao Instituto Clínica do Leite (Piracicaba, São Paulo, Brasil), aonde chegaram em no máximo 24 horas após a coleta. As amostras foram analisadas por espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (MIR), pelo equipamento Milkoscan FTTM (FOSS), para teores de gordura, proteína bruta, lactose, sólidos totais (ST), extrato seco desengordurado (ESD), caseína, NUL (mg/dL) e por citometria de fluxo para contagem de células somáticas (CCS, 1.000 células/mL). A composição do leite individual diária foi calculada por média ponderada, considerando a produção e a composição do leite de cada ordenha. A composição do leite do lote por período foi calculada por média ponderada, considerando a produção e a composição do leite de cada vaca e excluindo observações com DEL < 10 dias e/ou CCS $> 1.000.000$ células/mL.

Os animais foram alimentados uma vez por dia, às 06:00 horas, após a primeira ordenha. O descarregamento da silagem de milho e a mistura da TMR no cocho foram feitos manualmente, com o uso de garfos. O feno de Tifton, com tamanho de partícula longo, foi

distribuído de forma homogênea sobre a TMR uma hora após o início da alimentação. A TMR foi empurrada no mínimo oito vezes distribuídas ao longo do dia. Nos últimos quatro dias de cada período, foram mensurados o consumo de matéria seca por lote (CMS) e o escore de ruminação (porcentagem de vacas ruminando duas horas após o primeiro acesso à TMR no dia). Nos últimos dois dias de cada período, foram coletadas amostras de TMR (em 5 pontos ao longo do cocho, 500 g em cada ponto, misturados e quarteados) e sobras (total de sobras misturado e quarteado) e congeladas a -20°C para posterior análise. Ao final do trabalho de campo, amostras compostas de TMR e sobras dos dois últimos dias de cada período, por lote, foram secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas, moídas a 1 mm em moinho tipo Willey e analisadas por espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS) pelo 3rlab (Lavras, Minas Gerais, Brasil) para teor de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), fibra insolúvel em detergente ácido (FDA), amido, proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e cinzas. O teor de carboidratos não fibrosos (CNF) foi calculado como: $\text{CNF} = 100 - (\text{FDN} + \text{PB} + \text{EE} + \text{Cinzas})$. O teor de matéria orgânica residual (MOR) foi calculado como: $\text{MOR} = \text{CNF} - \text{Amido}$. O teor de FDN fisicamente efetivo (FDNfe) da dieta foi calculado utilizando uma regressão que estima o real teor de FDNfe em silagem de milho, em que $\text{FDNfe silagem de milho} = 4,5798 + (0,9465 \times \% \text{ FDN} \times \% \text{ de partículas} > 8 \text{ mm em MN})$ e assumindo todo FDN do feno de tifton e de caroço de algodão como FDNfe (PEREIRA, 2021, comunicação pessoal).

Amostras de TMR (a cada 3 metros lineares de cocho) e sobras (total de sobras misturado e quarteado) também foram coletadas para avaliação da distribuição de tamanho de partículas, qualidade de mistura e seleção, usando o separador de partículas Penn State (SPPS), com as peneiras de 19 mm, 8 mm e o fundo. A qualidade de mistura foi definida pelo coeficiente de variação (CV) entre todos os pontos coletados no cocho, para cada peneira e o fundo do SPPS (OELBERG e STONE, 2014). O cálculo de seleção por tamanho de partículas foi feito conforme LEONARDI e ARMENTANO (2003), em que Índice de Seleção = $(\text{Consumo observado} / \text{Consumo predito}) \times 100$. Consumo predito para cada tamanho de partículas, em matéria natural, foi: $\% \text{ TMR retida na peneira} \times \text{kg de TMR consumidos}$. O consumo observado foi: $\% \text{ TMR retida na peneira} \times \text{kg de TMR oferecidos} - \% \text{ de sobras retida na peneira} \times \text{kg de sobras}$. Valores para o Índice de Seleção menores que 100% indicam seleção contra e valores maiores que 100% indicam seleção a favor. As amostras de TMR, tanto para análise por NIRS quanto para avaliação com SPPS, foram coletadas antes da inclusão do feno de Tifton. A composição da dieta, distribuição do tamanho de partículas e cálculo do índice de seleção foram corrigidos considerando a inclusão de feno em cada período.

Foram calculados a secreção de energia no leite = $[(0,0929 \times \% \text{ gordura}) + (0,0547 \times \% \text{ proteína}) + (0,0395 \times \% \text{ lactose})] \times \text{kg de leite}$; leite corrigido para energia (LCE) = energia no leite/0,70 (assumindo 0,70 Mcal/kg de leite com 3,70% de gordura, 3,20% de proteína e 4,60% de lactose); eficiência alimentar (EA) = LCE/CMS; eficiência de uso do nitrogênio (EUN) = N excretado no leite/N ingerido e escore de contagem de células somáticas linear (ECCS) = $[\text{Log}_2(\text{CCS}/100.000)] + 3$. Os CV foram calculados para os teores de gordura, proteína bruta e NUL dentro de cada lote, por período.

2.3 Análise estatística

Todas as análises foram conduzidas utilizando o SAS Studio. O procedimento FASTCLUS foi utilizado para separar as observações por lote em três grupos, adotando teor de gordura ou teor de proteína bruta do leite médio do lote como critério de formação. As médias de mínimos quadrados (MMQ) para todas as variáveis coletadas foram geradas com o procedimento MIXED do SAS Studio, com o modelo estatístico $Y_{ij} = \mu + A_i + L_j + e_{ij}$, onde μ = média geral, A_i = efeito fixo de agrupamento, L_j = efeito aleatório de lote e e_{ij} = erro residual. Graus de liberdade foram estimados usando o método de Kenward-Roger. As MMQ foram comparadas com o teste Tukey, sendo consideradas significativas quando $P \leq 0,05$ e tendências quando $0,05 < P \leq 0,10$.

Correlações de Pearson entre as variáveis do SPPS (CV em cada peneira e no fundo; índices de seleção calculados) e os CV do teor de gordura, proteína bruta e NUL médios do lote no dia de coleta foram geradas com o procedimento CORR. Regressões lineares para predição dos teores de gordura, proteína bruta e NUL diários foram geradas a partir de resultados individuais da ordenha da manhã ou da tarde, utilizando o procedimento REG.

3. RESULTADOS

A tabela 1 descreve valores médios de inclusão dos ingredientes na TMR (similar para os dois lotes), composição da dieta consumida, distribuição de partículas com o SPPS e porcentagem de sobras ao longo do período experimental. As maiores variações na inclusão de ingredientes foram observadas para silagem de milho ($53,9 \pm 4,9$) e milho reidratado ($12,8 \pm 2,3$). A composição média da dieta consumida, em % MS, ao longo do período experimental foi de 16,5 % PB; 31,1% FDN, 24,6% FDNF, 16,4% FDNfe 1; 19,5% FDNfe 2; 22,5% FDA; 24,4% amido; 15,9% MOR; 5,3% EE e 6,8% cinzas. A distribuição de partículas média, em % MN, foi de 9,3% > 19mm; 43,5% de 8 a 19mm e 47,2% no fundo.

A tabela 2 relata o desempenho produtivo por grupo, adotando teor médio de gordura leite médio do lote como critério de formação. Como esperado, os teores de gordura foram diferentes entre os grupos ($P < 0,01$), com valores 0,18 e 0,34 unidades percentuais a mais para o grupo G1 em relação ao grupo G2 e G3, respectivamente. Como a produção de leite não foi influenciada pelos grupos, a produção de gordura seguiu o comportamento do teor de gordura, sendo maior para G1 e menor para G3 ($P = 0,02$). Peso das vacas, DEL, CMS, LCE, EA e EUN não foram diferentes entre os grupos. No entanto, os grupos diferiram no teor de sólidos totais ($P < 0,01$) e relação gordura/proteína ($P < 0,01$). Apesar de o teor de proteína do leite não ter sido afetado por grupo de gordura, o teor de caseína tendeu a ser menor para o G2 do que para o G1 ($P = 0,07$).

A tabela 3 traz a composição da dieta consumida, consumo de nutrientes, distribuição de tamanho de partículas, CV e índice de seleção para as peneiras de 19 mm, 8 mm e fundo do SPPS e escore de ruminação por grupo, utilizando o mesmo critério adotado na tabela 1. Os teores de FDN, FDNF, FDA, PB, amido, e MOR na dieta consumida não foram diferentes entre os grupos, indicando que a composição nutricional das dietas, principalmente no que diz respeito a carboidratos, não foi responsável pelas diferenças no teor de gordura do leite. A exceção foi a concentração de EE na dieta, que tendeu a ser maior para o grupo G3 do que para G1 ($P = 0,07$). Por outro lado, o tamanho de partículas do FDN tendeu a diferir entre os grupos ($P = 0,06$). Além disso, a proporção de partículas entre 8 e 19 mm foi maior para G1, intermediária para G2 e menor para G3 ($P = 0,03$). As vacas do G1 tenderam a ser menos seletivas contra partículas > 19 mm do que as do G3 ($P = 0,09$). Essas diferenças em tamanho de partícula das dietas consumidas provavelmente refletiram nos escore de ruminação, altamente afetado pelo agrupamento ($P < 0,01$).

A tabela 4 mostra o desempenho produtivo por grupo, adotando o teor médio de proteína bruta do leite do lote como critério de formação. Da mesma forma que no agrupamento por gordura, as características das vacas (produção, peso corporal, DEL, CMS, LCE, EA, EUN) não foram diferentes entre os grupos. Por design, o teor de proteína bruta diferiu entre os grupos, com valores 0,1 e 0,22 unidades percentuais a mais para o grupo PB1 do que para PB2 e PB3, respectivamente ($P < 0,01$). O agrupamento por proteína também afetou ($P < 0,05$) os teores de ESD e caseína, e a relação gordura/proteína. Houve ainda uma tendência para maior produção de caseína nos grupos PB1 e PB2 em relação a PB3 ($P = 0,10$). Por fim, apesar de o teor de NUL não ter sido afetado pelo agrupamento, a relação NUL/proteína tendeu a ser menor para PB1 do que para os outros dois grupos ($P = 0,07$).

A tabela 5 traz a composição da dieta consumida, consumo de nutrientes, distribuição de tamanho de partículas, CV e índice de seleção para as peneiras de 19 mm, 8 mm e fundo do SPPS e escore de ruminação por grupo, utilizando o mesmo critério adotado na tabela 4. A composição das dietas consumidas e o consumo de nutrientes foram os mesmos para os três grupos ($P > 0,14$). Os grupos também não diferiram nos escores de ruminação. Por outro lado, o grupo PB1 apresentou maior proporção de partículas da dieta entre as peneiras de 8 e 19 mm ($P = 0,04$) e tendeu a ter menor CV na peneira de 8 mm ($P = 0,09$) do que o grupo PB3. Além disso, a seleção contra partículas > 8 mm e a favor de partículas do fundo da peneira foi menor para PB1 e PB2 do que para PB3 ($P < 0,02$).

A tabela 6 relata as correlações de Pearson CV de componentes do leite, qualidade de mistura (CV 19 mm, CV 8 mm, CV fundo) e índices de seleção. Correlações positivas (de 0,41 a 0,51) significativas ($P < 0,05$) foram observadas entre CV do teor de gordura do leite vs. CV 8 mm e índice de seleção para o fundo; CV da relação gordura/proteína do leite vs. CV 8 mm, CV fundo e índice de seleção para o fundo e entre CV do NUL vs. CV fundo, enquanto correlações negativas (de $-0,55$ a $-0,41$) significativas ocorreram entre CV do teor de gordura do leite vs. índice de seleção para partículas > 8 mm e partículas de 8 a 19 mm; CV do teor de proteína bruta do leite vs. índice de seleção para partículas de 8 a 19 mm e entre CV da relação gordura/proteína do leite vs. índice de seleção para partículas > 8 mm e partículas de 8 a 19 mm.

A figura 1 mostra a predição dos teores de gordura, proteína bruta e NUL diários por resultados da ordenha da manhã ou da tarde. Os valores de R^2 observados variaram de 0,80 (predição do teor de gordura diário do leite a partir de amostra coletada na ordenha da tarde) a 0,98 (predição do teor de proteína bruta diário do leite a partir de amostra coletada na ordenha da manhã), mas todos os interceptos e inclinações das regressões lineares geradas foram significativos ($P < 0,01$).

4. DISCUSSÃO

O objetivo deste trabalho foi investigar a composição do leite individual de vacas como ferramenta de monitoramento nutricional em uma realidade de sistema produtivo, sujeito a maior complexidade do que em situações experimentais com alto controle de variáveis. As relações entre composição do leite e nutrição são bem descritas na literatura, mas de modo geral são resultados de experimentos em que as outras variáveis são controladas, permitindo enxergar com mais clareza essa conexão. As inferências que seriam possíveis a partir dessas associações ficam mais fracas quando a complexidade do sistema aumenta e variáveis não nutricionais ganham importância. Dessa forma, buscamos estratégias para analisar e interpretar as análises de leite individual nesse contexto complexo para tomada de decisões nutricionais. O agrupamento do banco de dados por teor de gordura e proteína nos permitiu avaliar o impacto das variáveis intrínsecas ao animal e à dieta nos dois principais componentes do leite. De maneira bastante interessante, as características relacionadas às vacas, como peso corporal, DEL, CMS, produção de leite e eficiências de uso de nutrientes não foram diferentes entre os grupos, independente do critério de agrupamento.

No agrupamento por teor de gordura do leite, foi bastante interessante observar que as concentrações e o consumo dos carboidratos da dieta (FDN, amido e MOR) não foram diferentes entre os grupos, mesmo com grandes variações no teor de gordura do leite entre eles. O balanço entre carboidratos fibrosos e não fibrosos interfere no ambiente e na fermentação ruminal e, conseqüentemente, na produção dos precursores da gordura do leite, bem como de ácidos graxos bioativos que regulam a síntese deste componente na glândula mamária (BAUMAN e GRIINARI, 2001). No entanto, essa relação não diz respeito somente à participação desses nutrientes da dieta, ou mesmo da quantidade consumida. A forma física dos carboidratos fibrosos tem grande importância por afetar diversos parâmetros ruminais relacionados a saúde da vaca leiteira, como formação do MAT, motilidade, velocidade de absorção dos ácidos graxos de cadeia curta, ruminação, produção de saliva e pH (MERTENS, 1997; HUMER et al., 2017). Iniciativas de criar referências para indicadores de efetividade física da fibra da dieta têm sido discutidas na comunidade científica (ZEBELI et al., 2012; KHORRAMI et al., 2021).

De fato, a efetividade física da fibra da dieta (FDNfe) foi maior nos grupos de maior gordura do leite. Apesar dos teores de FDNF (24,6%, em média) terem sido próximos do valor máximo recomendados pelo NASEM, 2021 (27%), a redução no teor de gordura do leite observada evidencia a importância de se considerar o tamanho de partículas e utilizar uma

medida de FDNfe na formulação de dietas, principalmente quando a principal forragem utilizada for silagem de milho finamente picada, condição comumente encontrada no Brasil (BERNARDES e RÊGO, 2014). Menores teores dietéticos de FDNfe estão associados a menor pH ruminal e ocorrência de acidose subaguda (SARA; HUMER et al., 2017), enquanto maiores teores de EE aumentam a quantidade de ácidos graxos insaturados que precisam ser biohidrogenados pelas bactérias ruminais. De fato, o teor de EE da dieta também foi diferente entre os grupos, de forma inversa ao teor de gordura no leite. Ambas as condições, principalmente quando ocorrem simultaneamente, favorecem a rota alternativa de biohidrogenação de ácidos graxos insaturados e aumentam a produção de C18:2 trans-10, cis-12 (dentre outros ácidos graxos intermediários), que atua como potente inibidor da síntese de gordura na glândula mamária (BAUMGARD et al., 2000).

A maior proporção de partículas entre 8 e 19 mm e menor seleção contra partículas > 19 mm também são evidências que corroboram com a teoria da biohidrogenação alternativa. Vacas leiteiras normalmente selecionam contra partículas longas e a favor de partículas curtas (LEONARDI e ARMENTANO, 2003; MILLER-CUSHON e DEVRIES, 2017), o que leva a um consumo desbalanceado entre carboidratos fermentáveis e FDNfe, reduz o tempo de ruminação, altera o ambiente ruminal e aumenta o risco de SARA (DEVRIES et al., 2008). MILLER-CUSHON e DEVRIES (2015) verificaram que para cada redução de 10 unidades percentuais no índice seleção contra partículas longas, espera-se queda de 0,10 unidades percentuais no teor de gordura do leite. No presente trabalho, uma redução de 13,9 unidades percentuais no índice de seleção contra partículas > 19 mm foi associada a queda de 0,34 unidades percentuais no teor de gordura do leite, mostrando um efeito ainda mais expressivo.

Analisadas em conjunto, a maior efetividade física da fibra, a melhor distribuição das partículas (maior proporção entre 8 e 19 mm) da dieta, e a menor seleção contra partículas longas foram associadas a maior teor de gordura no leite, como esperado. O escore de ruminação sugere que essa relação é resultado de mudanças no ambiente ruminal e, provavelmente, do fluxo de ácidos graxos reguladores da gordura do leite para o intestino. O fato de que o agrupamento dos lotes por teor de gordura do leite individual possibilitou a detecção dessas diferenças em manejo alimentar cria oportunidades para o desenvolvimento de ferramentas de monitoramento nutricional a partir da análise de leite. Futuras investigações deveriam focar em modelar essa relação entre média ponderada de gordura do lote e distribuição adequada do tamanho de partículas da dieta. A partir disso, indicadores e referências poderiam ser criados a partir do teor de gordura no leite do lote (e, talvez, da variabilidade dessa

característica dentro do lote) que substituiriam as ferramentas atualmente utilizadas para detecção de problemas de manejo alimentar.

Com efeito, os resultados da análise de correlação realizada entre os CV de componentes do leite, qualidade de mistura da TMR e índices de seleção indicam que a variabilidade dos componentes do leite individual deve ser explorada como ferramenta de monitoramento nutricional, tendo em vista que piores qualidades de misturas (CV para a peneira de 8 mm e/ou para o fundo), maior seleção contra partículas longas ($> 8\text{mm}$ e/ou 8 a 19 mm) e maior seleção a favor de partículas curtas (fundo) afetaram os CV para gordura, proteína bruta e NUL. Essas associações indicam potencial para se estudar a variabilidade de um componente dentro do lote. O melhor entendimento dessa característica pode possibilitar a criação de indicadores tanto para manejo alimentar adequado quanto para agrupamento de vacas adequado.

O agrupamento por proteína bruta do leite não resultou em relações com manejo alimentar tão evidentes quanto por gordura. No entanto, as relações que foram detectadas também dizem respeito à distribuição do tamanho de partícula da dieta e seleção. Maior teor de proteína bruta do leite foi relacionado a melhor distribuição de partículas (maior proporção entre 8 e 19 mm) e menor seletividade tanto contra partículas $> 8\text{ mm}$ quanto a favor de partículas finas ($< 8\text{ mm}$). De maneira similar, MILLER-CUSHON e DEVRIES (2015) também encontraram associação negativa entre seleção contra partículas longas e teor de proteína do leite, relatando decréscimo de 0,04 unidades percentuais para cada redução de 10 unidades percentuais no índice de seleção contra partículas longas. Apesar de não existirem muitos trabalhos relacionando seleção contra partículas longas e teor de proteína do leite, é possível especular que o desbalanço de carboidratos gerado pelo consumo preferencial de partículas menores pode ter afetado a síntese de proteína microbiana (NASEM, 2021) e, consequentemente, o aporte de aminoácidos para síntese de proteína do leite.

Outra observação bastante interessante nesse agrupamento foi de que, além da maior proporção de partículas entre 8 e 19 mm, o CV para peneira de 8 mm entre as amostras ao longo do cocho foi menor para o grupo com maior proteína do leite. O CV das peneiras é uma ferramenta de avaliação da qualidade da mistura da dieta completa (CARNEIRO et al., 2021). O impacto dessa qualidade no desempenho produtivo é relatado na literatura (OELBERG e STONE, 2014), evidenciando a importância do monitoramento dessa variável. Dessa forma, a relação detectada entre ela e o agrupamento por proteína identifica um potencial tópico para futuras investigações com objetivo de criar ferramentas de monitoramento alimentar a partir da análise de leite.

A composição do leite é utilizada também como indicador do metabolismo de nutrientes no animal, principalmente de compostos nitrogenados. O NUL, por exemplo, pode ser utilizado para inferir sobre a EUN em condições experimentais (BRODERICK e CLAYTON, 1997). No entanto, em situações de campo, essa inferência sofre perturbações de fatores não nutricionais que afetam o teor de NUL (MEYER et al., 2006). WATTIAUX (2018) propõe a relação entre NUL e proteína do leite como indicador da EUN. Foi interessante observar, em nosso banco de dados, que o agrupamento por proteína do leite não afetou teor de NUL ou EUN, mas que a relação NUL/proteína foi menor para vacas do PB1. Além disso, apesar do critério de agrupamento ter sido proteína bruta do leite, o teor e produção de caseína seguiram as diferenças entre os grupos. Essas observações apontam para possível desenvolvimento de ferramentas que utilizem a análise proteína do leite para monitorar a eficiência com que o nitrogênio dietético, geralmente o nutriente mais caro da dieta (VANDEHAAR e ST-PIERRE, 2006), é utilizado para fins produtivos (por exemplo, síntese de caseína).

É evidente que o desenvolvimento de ferramentas de uso prático para monitoramento nutricional a partir da análise de leite ainda precisa de mais etapas de avaliação, a partir das potenciais associações ressaltadas neste estudo. No entanto, além da abordagem analítica desse problema, existe também uma questão de cunho prático relacionada à amostragem de leite na fazenda. Coletar amostras que representem bem o leite individual diário é, do ponto de vista operacional, desafiador em fazendas leiteiras. Como as amostras deste experimento foram coletadas separadamente em cada uma das duas ordenhas, avaliamos se seria possível estimar com precisão e acurácia a composição diária do leite a partir de uma única amostra (manhã ou tarde). Os valores de R^2 observados para teores de gordura, proteína bruta e NUL sugerem alta precisão em se estimar o teor diário a partir de uma única amostra. No entanto, em todas as regressões, o intercepto foi diferente de 0 ($P < 0,01$) e a inclinação da reta foi diferente de 1 ($P < 0,01$), evidenciando que o valor não é o mesmo entre uma amostra e a amostra composta. Em outras palavras, as concentrações desses componentes em uma ordenha não representam com acurácia os teores diários. Isso não necessariamente significa que não se deve utilizar amostras de uma única ordenha, mas sim que isso deve ser levado em conta na definição de qualquer indicador ou referência baseados em concentrações dos componentes do leite. É importante salientar que neste trabalho as ordenhas eram praticamente equidistantes (manhã às 04:00, tarde às 15:30 horas) e intervalos de ordenha diferentes podem influenciar nos resultados (HARGROVE, 1994). Por isso, talvez seja necessário que, para definição de valores de

referência em futuros indicadores de monitoramento em situações em que se deseja amostrar apenas uma das ordenhas, equações específicas para o sistema sejam desenvolvidas.

5. CONCLUSÃO

Foi possível identificar associações entre a composição do leite e variáveis de nutrição e manejo alimentar em uma realidade de fazenda, mesmo sem o controle de fatores não nutricionais normalmente utilizado em experimentos. As associações encontradas indicam potenciais caminhos para a adoção da análise de leite individual como ferramenta de rotina para o monitoramento nutricional em fazendas leiteiras.

REFERÊNCIAS

- BAUMAN, D. E; GRINARI, J. M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science**, v. 70, n. 1-2, p. 15-29, 2001.
- BAUMGARD, L. H. et al. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 278, n. 1, p. R179-R184, 2000.
- BERNARDES, T. F; DO RÉGO, A. C. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 3, p. 1852-1861, 2014.
- BRODERICK, G. A; CLAYTON, M. K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 11, p. 2964-2971, 1997.
- CARNEIRO, J. H; SANTOS, J. F; ALMEIDA, R. Accuracy and physical characteristics of total mixed rations and feeding sorting behavior in dairy herds of Castro, Paraná. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 50, 2021.
- DEVRIES, T. J; DOHME, F; BEAUCHEMIN, K. A. Repeated ruminal acidosis challenges in lactating dairy cows at high and low risk for developing acidosis: Feed sorting. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 10, p. 3958-3967, 2008.
- GLATZ-HOPPE, J. et al. Relationship between milk constituents from milk testing and health, feeding, and metabolic data of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 11, p. 10175-10194, 2020.
- HARGROVE, G. L. Bias in composite milk samples with unequal milking intervals **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 7, p. 1917-1921, 1994.
- HUMER, E. et al. Invited review: Practical feeding management recommendations to mitigate the risk of subacute ruminal acidosis in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 2, p. 872-888, 2018.
- HUTJENS, M. F. Manureology. **Proceedings Four-State Dairy Nutrition & Management Conference**. Dubuque, Iowa. 2010. p. 59-61.
- KHORRAMI, B. et al. Models to predict the risk of subacute ruminal acidosis in dairy cows based on dietary and cow factors: A meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 7, p. 7761-7780, 2021.
- LEONARDI, C; ARMENTANO, L. E. Effect of quantity, quality, and length of alfalfa hay on selective consumption by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 2, p. 557-564, 2003.
- LOOPER, M. Factors affecting milk composition of lactating cows. 2012.
- MERTENS, D. R. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 7, p. 1463-1481, 1997.
- MEYER, P. M. et al. Fatores não-nutricionais e concentração de nitrogênio uréico no leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 1114-1121, 2006.
- MILLER-CUSHON, E. K; DEVRIES, T. J. Associations between feed push-up frequency, lying and feeding behavior, and milk composition of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. E-Suppl. 2, p. 13, 2015.
- MILLER-CUSHON, E. K; DEVRIES, T. J. Feed sorting in dairy cattle: Causes, consequences, and management. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 5, p. 4172-4183, 2017.
- NASEM. Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Eighth Revised Edition. 2021. Washington, DC: The National Academies Press.
- OELBERG, T. J; STONE, W. Monitoring total mixed rations and feed delivery systems. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 30, n. 3, p. 721-744, 2014.

SANTOS, J. E. P. Feeding for milk composition. **Proceedings of the VI International Congress on Bovine Medicine; Spanish Association of Specialists in Bovine Medicine (ANEMBE)**. Santiago de Compostela, Spain. 2002. p. 163-172.

VANDEHAAR, M. J; ST-PIERRE, N. Major advances in nutrition: Relevance to the sustainability of the dairy industry. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 4, p. 1280-1291, 2006.

WATTIAUX, M. A. 2018. Milk urea-N yield (muny) as a nutritional and environmental management tool for the dairy industry. **United States Patent**, US 9,955,673 B1.

ZEBELI, Q. et al. Invited review: Role of physically effective fiber and estimation of dietary fiber adequacy in high-producing dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 3, p. 1041-1056, 2012.

Tabela 1. Inclusão de ingredientes na TMR (%) e composição da TMR consumida (% MS) ao longo do período experimental.

Item	Média	Desvio padrão
Silagem de milho	53,9	4,9
Feno de tifton	2,9	0,5
Milho reidratado	12,8	2,3
Polpa cítrica	6,9	1,2
Farelo de soja	12,1	0,7
Caroço de algodão	9,0	0,8
Ureia	0,56	0,08
Calcário calcítico	1,15	0,10
NaCl	0,23	0,04
Mineral¹	0,45	0,08
Levedura²	0,05	0,00
PB	16,5	1,5
FDN	31,1	2,8
FDNF³	24,6	2,3
FDNfe⁴	19,5	1,9
FDA	22,5	1,7
Amido	24,4	2,3
MOR⁵	15,9	1,3
EE	5,3	0,6
Cinzas	6,8	0,2
MS, % MN	51,0	4,0
Partículas > 19 mm⁶, % MN	9,3	4,1
Partículas > 8 mm⁶, % MN	52,7	5,6
Partículas 8 a 19 mm⁶, % MN	43,5	2,9
Partículas fundo⁶, % MN	47,2	5,6
Sobras⁷, % MN	8,7	3,4

¹186 g/kg de Ca, 90 g/kg de P, 20 g/kg de Mg, 25 g/kg de S, 120 g/kg de Na, 185 g/kg de Cl, 90 mg/kg de Co, 1500 mg/kg de Cu, 3000 mg/kg de Mn, 7500 mg/kg de Zn, 25 mg/kg de Se, 135 mg/kg de I. ²Levedura Biorigin, São Paulo, Brasil. ³Calculado com a dieta formulada. ⁴Calculado conforme PEREIRA (2021, comunicação pessoal). ⁵MOR = CNF – Amido. ⁶Distribuição do tamanho de partículas avaliada com o SPPS. ⁷Sobras = kg de sobras MN/kg de TMR oferecidos MN.

Tabela 2. Desempenho produtivo agrupando as observações por teor de gordura do leite do lote. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

Variável	G1	G2	G3	EPM	P valor
Leite, kg/dia	24,5	24,4	24,8	3,20	0,78
DEL	180	182	199	26,91	0,17
Peso vivo, kg	597	589	584	39,42	0,60
LCE ¹ , kg/dia	24,0	23,2	23,2	2,90	0,28
CMS, kg/dia	20,3	19,5	20,3	1,50	0,37
EA ²	1,18	1,18	1,15	0,06	0,64
EUN ³	22,4	21,6	21,3	0,94	0,66
ST, %	11,41a	11,13b	11,00b	0,09	< 0,01
ESD, %	7,70	7,61	7,64	0,09	0,29
Gordura, %	3,70a	3,52b	3,36c	0,02	< 0,01
Proteína bruta, %	3,10	3,03	3,06	0,09	0,14
Gordura/Proteína	1,19a	1,16a	1,09b	0,03	< 0,01
Caseína, %	2,41a	2,34b	2,37ab	0,08	0,07
Lactose, %	4,60	4,58	4,58	0,02	0,68
ST, kg/dia	2,79	2,71	2,73	0,34	0,43
ESD, kg/dia	1,89	1,86	1,89	0,22	0,71
Gordura, kg/dia	0,89a	0,84b	0,83b	0,10	0,02
Proteína bruta, kg/dia	0,75	0,73	0,75	0,08	0,53
Caseína, kg/dia	0,58	0,56	0,58	0,06	0,43
Lactose, kg/dia	1,14	1,12	1,14	0,15	0,83
ECCS ⁴ , 1 a 9	2,81	3,11	2,97	0,12	0,20
NUL, mg/dL	13,6	14,4	13,9	0,40	0,35
NUL/Proteína	4,46	4,81	4,60	0,20	0,28

¹LCE = [(0,0929 x % gordura) + (0,0547 x % proteína) + (0,395 x % lactose)] x kg de leite/0,70. ²EA = LCE/CMS. ³EUN = N excretado no leite/N ingerido. ⁴ECCS = [Log₂(CCS/100.000)] + 3.

Tabela 3. Composição da dieta consumida; consumo de nutrientes; distribuição do tamanho de partículas, CV e índice de seleção para as peneiras de 19mm, 8mm e fundo do SPPS; escore de fezes e escore de ruminação agrupando as observações por teor de gordura do leite do lote. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

Variável	G1	G2	G3	EPM	P valor
FDN, % MS	31,7	30,8	30,7	2,10	0,57
FDNF¹, % MS	24,9	24,5	24,4	2,05	0,77
FDNfe², % MS	20,3a	20,0a	18,2b	1,10	0,06
FDA, % MS	22,8	22,4	22,3	1,19	0,78
Amido, % MS	24,6	24,4	24,3	0,90	0,97
MOR, % MS	16,1	15,7	15,8	0,87	0,63
PB, % MS	15,8	16,6	17,0	0,76	0,26
EE, % MS	4,9b	5,3ab	5,5a	0,35	0,07
CFDN³, kg/dia	6,2	5,8	6,0	0,19	0,34
CFDNF³, kg/dia	5,0	4,8	4,9	0,14	0,52
CFDNfe³, kg/dia	4,1	3,8	3,7	0,19	0,12
CFDA³, kg/dia	4,5	4,2	4,4	0,14	0,32
CAmido³, kg/dia	5,1	4,7	5,0	0,39	0,50
CMOR³, kg/dia	3,4	3,1	3,3	0,42	0,48
CPB³, kg/dia	3,3	3,4	3,5	0,42	0,54
CEE³, kg/dia	1,0	1,1	1,2	0,16	0,23
Part. > 19 mm⁴, % MN	9,5	9,9	8,4	1,81	0,79
Part. > 8 mm⁴, % MN	54,8	53,1	50,3	2,9	0,20
Part. 8 a 19 mm⁴, % MN	46,2a	43,4b	41,8c	1,60	0,03
Part. Fundo⁴, % MN	45,1	46,8	49,7	2,96	0,19
CV 19mm⁵, %	39,5	27,9	35,1	5,09	0,29
CV 8mm⁵, %	8,4	9,2	10,3	1,35	0,33
CV fundo⁵, %	11,7	11,9	10,7	1,56	0,87
Seleção > 19 mm⁶, %	88,0a	81,4ab	74,1b	5,70	0,09
Seleção > 8 mm⁶, %	97,6	95,6	95,4	1,85	0,18
Seleção 8 a 19 mm⁶, %	100,0	98,4	99,4	1,44	0,33
Seleção fundo⁶, %	102,7	104,7	104,5	1,72	0,22
ER⁷, %	50,5a	45,1b	36,8c	1,80	0,01

¹Estimado utilizando a dietas formulada. ²Calculado conforme PEREIRA (2021, comunicação pessoal).

³Consumo do nutriente = CMS x % do nutriente na MS. ⁴Distribuição de tamanho de partículas avaliada com o SPPS. ⁵Coefficiente de variação (CV) entre pontos de TMR coletados ao longo de todo o cocho, utilizando o SPPS. ⁶Índice de Seleção = Consumo observado/Consumo predito. ⁷Porcentagem de vacas ruminando duas horas após a primeira alimentação do dia.

Tabela 4. Desempenho produtivo agrupando as observações por teor de proteína bruta do leite do lote. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

Variável	PB1	PB2	PB3	EPM	P valor
Leite, kg/dia	24,2	24,9	24,7	3,10	0,50
DEL	185	186	190	29,30	0,97
Peso vivo, kg	596	595	579	47,02	0,62
LCE ¹ , kg/dia	23,4	24,0	23,1	3,09	0,34
CMS, kg/dia	20,2	20,1	19,9	1,78	0,98
EA ²	1,13	1,19	1,18	0,06	0,58
EUN ³	22,1	21,7	21,4	0,09	0,90
ST, %	11,30a	11,21ab	11,03b	0,07	0,03
ESD, %	7,76a	7,68b	7,51c	0,03	< 0,01
Gordura, %	3,54	3,53	3,51	0,06	0,94
Proteína bruta, %	3,17a	3,07b	2,95c	0,02	< 0,01
Gordura/Proteína	1,12b	1,15ab	1,19a	0,02	0,04
Caseína, %	2,46a	2,39b	2,27c	0,02	< 0,01
Lactose, %	4,61	4,61	4,54	0,04	0,32
ST, kg/dia	2,74	2,80	2,70	0,36	0,35
ESD, kg/dia	1,88	1,92	1,84	0,24	0,30
Gordura, kg/dia	0,85	0,87	0,84	0,11	0,50
Proteína bruta, kg/dia	0,75	0,76	0,72	0,09	0,20
Caseína, kg/dia	0,58ab	0,59a	0,55b	0,07	0,10
Lactose, kg/dia	1,12	1,15	1,12	0,15	0,34
ECCS ⁴ , 1 a 9	2,86	3,10	2,94	0,12	0,38
NUL, mg/dL	13,7	14,6	13,7	0,37	0,17
NUL/Proteína	4,37b	4,81a	4,69a	0,13	0,07

¹LCE = [(0,0929 x % gordura) + (0,0547 x % proteína) + (0,395 x % lactose)] x kg de leite/0,70.

²EA = LCE/CMS. ³EUN = N excretado no leite/N ingerido. ⁴ECCS = [Log₂(CCS/100.000)] + 3.

Tabela 5. Composição da dieta consumida; consumo de nutrientes; distribuição do tamanho de partículas, CV e índice de seleção para as peneiras de 19mm, 8mm e fundo do SPPS; escore de fezes e escore de ruminação agrupando as observações por teor de proteína bruta do lote. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

Variável	PB1	PB2	PB3	EPM	P valor
FDN, % MS	31,4	30,5	31,3	2,26	0,61
FDNF ¹ , % MS	25,7	24,3	23,8	1,49	0,14
FDNfe ² , % MS	19,6	19,5	19,5	1,46	0,99
FDA, % MS	22,8	22,1	22,6	1,27	0,58
Amido, % MS	24,1	24,7	24,4	0,86	0,87
MOR, % MS	15,6	16,0	16,0	0,94	0,89
PB, % MS	15,7	16,7	17,0	0,53	0,23
EE, % MS	5,1	5,2	5,4	0,40	0,90
CFDN ³ , kg/dia	6,0	5,9	6,0	0,20	0,81
CFDNF ³ , kg/dia	3,5	3,1	3,3	0,18	0,31
CFDNfe 1 ³ , kg/dia	3,8	3,9	4,1	0,16	0,39
CFDNfe 2 ³ , kg/dia	5,0	4,8	4,9	0,14	0,58
CFDA ³ , kg/dia	4,4	4,3	4,4	0,31	0,86
CAmido ³ , kg/dia	4,8	4,9	5,0	0,46	0,88
CMOR ³ , kg/dia	3,2	3,3	3,3	0,47	0,99
CPB ³ , kg/dia	3,3	3,4	3,4	0,45	0,89
CEE ³ , kg/dia	1,1	1,1	1,1	0,17	0,95
Part. > 19mm ⁴ , % MN	9,5	7,2	11,2	3,01	0,19
Part. > 8mm ⁴ , % MN	54,3	50,7	53,1	3,95	0,42
Part. 8 a 19mm ⁴ , % MN	45,2a	43,6ab	41,6b	0,09	0,04
Part. Fundo ⁴ , % MN	45,7	49,2	46,8	0,04	0,42
CV 19mm ⁵ , %	39,4	24,1	39,1	0,08	0,29
CV 8mm ⁵ , %	8,0b	9,0ab	10,8a	0,08	0,09
CV fundo ⁵ , %	11,2	10,3	12,7	0,02	0,54
Seleção > 19 mm ⁶ , %	86,4	83,3	73,8	4,51	0,14
Seleção > 8 mm ⁶ , %	98,1a	96,7a	94,0b	0,89	0,01
Seleção 8 a 19mm ⁶ , %	100,0	98,7	99,0	1,43	0,56
Seleção fundo ⁶ , %	102,3b	103,6b	106,0a	0,86	0,02
ER ⁷ , %	41,9	47,5	43,1	2,55	0,28

¹Estimado utilizando a dietas formulada.²Calculado conforme PEREIRA (2021, comunicação pessoal).

³Consumo do nutriente = CMS x % do nutriente na MS. ⁴Distribuição de tamanho de partículas avaliada com o SPPS. ⁵Coefficiente de variação (CV) entre pontos de TMR coletados ao longo de todo o cocho, utilizando o SPPS. ⁶Índice de Seleção = Consumo observado/Consumo predito. ⁷Porcentagem de vacas ruminando duas horas após a primeira alimentação do dia.

Tabela 6. Correlações de Pearson entre coeficientes de variação (CV) de componentes do leite médios do lote, qualidade de mistura (CV 19 mm, CV 8 mm, CV fundo) e índices de seleção.

Variável	CV 19 mm	CV 8 mm	CV fundo	Seleção > 19 mm	Seleção > 8 mm	Seleção 8 a 19 mm	Seleção fundo
CV gordura	- 0,03	0,41*	0,34	- 0,13	- 0,41*	- 0,49**	0,49**
CV proteína bruta	0,24	0,36	0,16	0,21	- 0,33	- 0,48*	0,28
CV gordura/proteína	0,12	0,45*	0,41*	- 0,04	- 0,40*	- 0,55**	0,51**
CV NUL	0,34	- 0,07	0,38*	- 0,18	- 0,15	- 0,30	0,08

* $P \leq 0,05$. ** $P \leq 0,01$.

Figura 1. Predição dos teores de gordura, proteína bruta e NUL diários por resultados da ordenha da manhã ou da tarde.

