



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

ANTÔNIO CARNEIRO SANTANA DOS SANTOS

**INDICADORES EXTERNOS E INTERNO NA ESTIMATIVA DE FLUXO DE
MATÉRIA SECA RETICULAR, OMASAL E ABOMASAL EM VACAS
ALIMENTADAS COM DIFERENTES FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS**

Salvador
2014

ANTÔNIO CARNEIRO SANTANA DOS SANTOS

**INDICADORES EXTERNOS E INTERNO NA ESTIMATIVA DE FLUXO DE
MATÉRIA SECA RETICULAR, OMASAL E ABOMASAL EM VACAS
ALIMENTADAS COM DIFERENTES FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, como requisito para a obtenção do grau de Zootecnista.

Orientador: Prof. Dr. José Esler de Freitas Junior

SALVADOR
SEMESTRE 01/2014


ANTÔNIO CARNEIRO SANTANA DOS SANTOS

**INDICADORES EXTERNOS E INTERNO NA ESTIMATIVA DE FLUXO DE
MATÉRIA SECA RETICULAR, OMASAL E ABOMASAL EM VACAS
ALIMENTADAS COM DIFERENTES FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS**

DECLARAÇÃO DE ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE

Declaro, para todos os fins de direito e que se fizerem necessários, que isento completamente a Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, a coordenação da Disciplina MEV99- Trabalho de Conclusão de Curso e os professores indicados para compor o ato de defesa presencial, de toda e qualquer responsabilidade pelo conteúdo e ideias expressas no presente Trabalho de Conclusão de Curso. Estou ciente de que poderei responder administrativa, civil e criminalmente em caso de plágio comprovado.

Salvador, 15. Julho, 2014.


ANTÔNIO CARNEIRO SANTANA DOS SANTOS

TERMO DE APROVAÇÃO

ANTÔNIO CARNEIRO SANTANA DOS SANTOS

INDICADORES EXTERNOS E INTERNO NA ESTIMATIVA DE FLUXO DE
MATÉRIA SECA RETICULAR, OMASAL E ABOMASAL EM VACAS
ALIMENTADAS COM DIFERENTES FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do grau de
Zootecnista, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia.

Aprovado em 15 de Julho de 2014.

Banca Examinadora:


Prof. Dr. José Esler de Freitas Junior - UFBA
(Orientador)


Prof. Dra. Manuella Libano Tosto - UFBA


Prof. Dr. Gleidson Giordano Pinto de Carvalho - UFBA

DEDICATÓRIA

A todos meus colegas de curso.

Em especial aos “meus pais” Ana e Antônio por terem me dado a maior dádiva de Deus
“A Vida”!

Minha irmã Ana Paula (P) pela amizade e amor.
A toda minha família.

AGRADECIDO

Primeiramente a Deus por me oferecer saúde e paz.

Aos meus pais, Ana e Antônio pelos ensinamentos, amor e apoio.

A meu orientador, José Esler de Freitas Junior pela ajuda na escrita deste trabalho.

Santos, Antônio Carneiro Santana. **Indicadores externos e interno na estimativa de fluxo de matéria seca reticular, omasal e abomasal em vacas alimentadas com diferentes fontes de ácidos graxos**. Salvador, Bahia, 2014. 50p. Trabalho de Conclusão de Curso (Zootecnia) - Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, 2014.

RESUMO

Objetivou-se com este estudo avaliar o uso de diferentes indicadores na estimativa de fluxo de matéria seca no retículo, omaso e abomaso em vacas suplementadas com diferentes fontes de ácidos graxos. Foram utilizadas 4 vacas Holandesas (600 kg \pm 30 kg de DP; peso corporal), múltiparas não lactantes canuladas no rúmen e abomaso, distribuídas em um quadrado latino 4 x 4, alimentadas com as seguintes dietas: 1) Controle (CT), composto por uma dieta basal a base de farelo de soja e milho; 2) (OS), inclusão de 3% de óleo de soja refinado na matéria seca total; 3) (GS), inclusão de 16% grão de soja “in natura” na matéria seca total; e 4) SCAG, baseada na inclusão de 3% de sais de cálcio na matéria seca total. Foram analisadas as concentrações de CoEDTA, YbCl₃ e FDNi, nas três fases líquidas, pequenas partículas, e grandes partículas. O FDNi resultou em maior fluxo de MS no abomaso (3,76 kg de MS/dia), comparado ao retículo (3,14 kg de MS/dia). Avaliou-se o sistema de único indicador no sítio omasal os dois indicadores externos CoEDTA e YbCl₃, diferiram do indicador interno FDNi (7,13kg; 7,30 kg e 3,39kg de MS/dia respectivamente). O uso de YbCl₃ reduziu o fluxo de MS kg/dia em relação a esses dois compartimentos. O sistema de três indicadores representa o método mais representativo para reconstituição da digesta verdadeira em compartimento como omaso. O uso de fontes de ácidos graxos insaturados em dietas de vacas leiteiras não lactantes aumenta o fluxo de matéria seca no abomaso.

Palavras chave: lipídeos, compartimentos, vacas leiteiras, marcadores

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Biohidrogenação ruminal dos ácidos linoleico e linolênico.	21
Figura 2. Representação esquemática dos processos metabólicos no rúmen.	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição percentual dos ingredientes e química das dietas experimentais.....	31
Tabela 2. Composição química obtida para os ingredientes	32
Tabela 3. Médias de fluxo de MS (kg/dia), estimadas pelo método de único e triplo indicador em diferentes sítios de coleta.....	37
Tabela 4. Médias de fluxo de MS (kg/dia) e estimadas pelo método de triplo indicador em diferentes sítios de coleta e dietas com diferentes fontes de ácidos graxos	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG	ÁCIDOS GRAXOS
AGL	ÁCIDOS GRAXOS LIVRES
AGPI	ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS
CLA	ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO
CMS	CONSUMO DE MATÉRIA SECA
FDA	FIBRA EM DETERGENTE ÁCIDO
FDAi	FIBRA EM DETERGENTE ÁCIDO INDIGESTÍVEL
FDN	FIBRA EM DETERGENTE NEUTRO
FDNi	FIBRA EM DETERGENTE NEUTRO INDIGESTÍVEL
MS	MATÉRIA SECA
PDR	PROTEÍNA DEGRADÁVEL NO RUMEN
PMSF	PRODUÇÃO DE MATÉRIA SECA FECAL
PNDR	PROTEÍNA NÃO DEGRADAVEL NO RÚMEN
SCAG	SAIS DE CÁLCIO DE ÁCIDOS GRAXOS

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 <i>Uso de indicadores e marcadores</i>	13
2.1.1 <i>Indicadores Internos</i>	14
2.1.2 <i>Indicadores externos</i>	15
2.1.2.1 <i>Dióxido de titânio (TiO₂)</i>	16
2.1.2.2 <i>Cloreto de cromo complexado com EDTA (Cr-EDTA) e Cobalto EDTA</i>	16
2.1.2.3 <i>Cloreto de Itérbio (YbCl₃)</i>	17
2.2 <i>Ácidos graxos em dietas para ruminantes</i>	18
2.3 <i>Digestão e metabolismo de ácidos graxos</i>	20
2.4 <i>Consumo de matéria seca</i>	23
2.5 <i>Fermentação ruminal</i>	24
2.6 <i>Grão de Soja</i>	25
2.7 <i>Óleo de soja</i>	26
2.8 <i>Sais de cálcio de ácidos graxos</i>	28
3 MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1 <i>Local, instalações e animais</i>	30
3.2 <i>Dietas Experimentais e Análise de Alimentos</i>	30
3.3 <i>Coletas Reticular, Omasal e Abomasal</i>	33
3.4 <i>Indicadores para Reconstituição da Digesta Verdadeira</i>	33
3.5 <i>Análises estatísticas</i>	34
4 RESULTADO E DISCUSSÃO	36
5 CONCLUSÃO	40
6 REFERÊNCIAS	41

1. INTRODUÇÃO

Para evitar cirurgias invasivas no duodeno e/ou abomaso, a obtenção de amostras para determinação de fluxo de nutrientes, em compartimentos alternativos, como o retículo e omaso, vem sendo utilizadas, estas amostragens apresentam o benefício de ser menos invasivas, pois as mesmas podem ser realizadas com apenas a utilização de uma única fistula localizada no rumem. A implantação de cânulas unicamente no rúmen proporciona aos animais: menores probabilidade de complicação pós-cirúrgica, facilita recuperação em pouco espaço de tempo e proporciona fácil manutenção dos animais. (DIAS, 2009) Contudo como consequência destas cirurgias, objetiva-se uma maior permanência dos animais em experimentos do que os fistulados adicionalmente no abomaso ou duodeno, estes normalmente, tendem a adquirir rejeição de cânulas, prejudicando por consequência o desempenho destes animais (HUHTANEN et al., 1997).

A coleta total de fezes vem a ser uma atividade bastante laboriosa, contudo tornasse necessário o emprego de métodos alternativos, como o uso dos indicadores (internos ou externos), pelo fato destes serem técnicas que promovem um desenvolvimento mais simples do trabalho experimental, sendo estes capazes de estimar, taxa de passagem do alimento. De maneira geral a informação sobre o meio digestório de ruminantes vem a ser algo de suma importância pelo fato de que através destes conhecimentos pode-se estimar a produção de aminoácidos microbianos, passagem de líquido, fermentação de carboidratos e degradabilidade. O conhecimento dos locais de digestão dos nutrientes pode explicar diferenças encontradas no desempenho, como exemplo o aumento da digestão do amido no rúmen geralmente resulta em maior síntese microbiana e pode alterar positivamente o desempenho animal.

Com o conhecimento do consumo e a digestibilidade de qualquer alimento torna-se possível avaliar a qualidade do alimento, sendo a resposta animal na forma de produção o resultado do somatório destes dois fatores. Devido os avanços em tecnologia nos sistemas de produção cada vez mais a formulação de dietas para animais ruminantes vem sendo desenvolvidas com maior precisão, fazendo uso do conhecimento do estado fisiológico do animal para que assim torne-se possível calcular as concentrações de proteínas, energia, minerais e vitaminas na dieta destes animais.

Devido estudos em melhoramento genético o aumento do valor genético dos animais vem crescendo, na bovinocultura leiteira ultimamente a ingestão de energia para vacas

destinadas a produção de leite vem se apresentando como fator limitante para produção, visto que estes animais necessitam de elevadas exigências em proteína e em especial energética, excedendo em circunstâncias a capacidade de consumir energia da dieta, o que pode acarretar em diminuição do desempenho produtivo e saúde destes animais (HARVATINE; ALLEN, 2006).

A suplementação de vacas com fontes de lipídios favorece o aumento da densidade energética da dieta proporcionando por sua vez indiretamente um maior consumo de energia refletindo em aumento de produção destes animais. Os lipídios, possuem elevada eficiência metabólica e são extremamente ricos em energia (9,4 Kcal/g, equivalente a cerca de 2,25 vezes a energia de carboidratos desde que sejam absorvidos e metabolizados) (Doreau & Chilliard, 1997), estes não são componentes essenciais na dieta de animais por aumentar a capacidade de transporte e absorção de vitaminas lipossolúveis e fornecer ácidos graxos essenciais. A uso de fontes lipídicas ricas em ácidos graxos poli-insaturados, provindos de sementes oleaginosas e óleos vegetais pode proporcionar uma grande quantidade de intermediários na biohidrogenação ruminal. Porém, torna-se necessário estar consciente no nível de inclusão deste na dieta do animal e fonte de ácidos graxos pois utilizações indevidas podem acarretar distúrbios como a depressão na produção de gordura no leite e alteração na digestibilidade em especial da fibra, podendo levar à diminuição do aproveitamento de alguns nutrientes pelo animal (Costa, 2008).

Contudo objetivou-se com este estudo avaliar a utilização de diferentes indicadores para estimativa de fluxo de matéria seca nos compartimentos reticular, omasal e abomasal em vacas leiteiras alimentadas diferentes fontes de ácidos graxos insaturados.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Uso de indicadores e marcadores*

Ao longo dos anos a pesquisa nacional e internacional em nutrição de ruminantes vem estudando o valor nutricional dos alimentos, no entanto tornasse necessário avaliar conjuntamente alguns fatores como, o consumo, digestibilidade e o metabolismo animal. Segundo Van Soest (1994), o consumo é considerado a principal variável que influencia o desempenho animal por estar diretamente relacionado ao aporte de nutrientes, sendo este portanto, determinante para suprir as exigências nutricionais.

A digestibilidade pode ser mensurada pelo controle do consumo de nutrientes e a excreção de nutrientes aferida pela excreção fecal. No entanto, quantificar a excreção fecal diária em ruminantes requer muito trabalho. A produção fecal total pode ser mensurada através de bolsas coletoras amarradas ao animal, sendo esta mais usada em pequenos ruminantes, no entanto esta técnica pode promover possíveis efeitos prejudiciais de um peso sobre o animal, proporcionando por consequência alterações em seus hábitos. Todavia, experimentos para determinação de digestibilidade por meio da coleta total de fezes são dispendiosos e ainda carecem de adaptação dos animais às gaiolas e às bolsas coletoras (ÍTAVO et al., 2002). Na busca por métodos alternativos ao procedimento padrão de coleta total de fezes levou ao emprego de substâncias denominadas “indicadores”, que permitem a estimativa da produção fecal dos animais a partir de amostras de fezes obtidas seguindo protocolos pré-estabelecidos de coletas (VALENTINI, 2012).

Indicadores são compostos de menção, utilizados com finalidade de monitorar aspectos químicos (hidrólise e síntese) e físicos (fluxo) da digestão (Owens & Hanson, 1992), podendo ser empregados para determinação do fluxo da digesta além de outras variáveis. De acordo com Rodriguez et al. (2006), considera-se um bom indicador aquele que possua as propriedades de ser inerte e atóxico, ser totalmente indigerível e inabsorvível, não apresentar função fisiológica, poder ser processado com o alimento, misturar-se bem ao alimento e permanecer uniformemente distribuído na digesta, não influenciar e não ser influenciado por secreções intestinais nem pela população microbiana intestinal, possuindo por sua vez método específico e sensível de determinação.

Se não houver uma boa recuperação do indicador, uma aparente digestão surge do erro resultante da deficiência na recuperação do mesmo (EMBRAPA, 2010). Tornasse de extrema importância que o seja distribuído uniformemente, com finalidade de permitir concentração

constante e quantificável na digesta, alcançando o chamado estado de equilíbrio (“*steady-state*”) o mais rapidamente possível (VALENTINI, 2012).

Segundo Figueiredo, (2011) a preferência do indicador a ser usado é definida por cada pesquisador onde devesse levar em consideração, custo, facilidade de obtenção e análise. Recuperação incompleta nas fezes, variação no fluxo de passagem do rúmen, amostras com baixa representatividade e delineamento estatístico são questões problemáticas associadas a experimentos que utilizam indicadores (MERCHEN, 1988).

Existe duas grandes categorias de indicadores, os internos e externos (KOTB & LUCKEY, 1972; OWENS & HANSON, 1992; MOORE & SOLLENBERGER, 1997). Os indicadores internos fazem parte da constituição das dietas, tais como a sílica, a lignina, o cromogênio, a fibra em detergente neutro (FDNi) e a fibra em detergente ácido (FDAi) indigestíveis, a cinza insolúvel em ácido e os n-alcenos. Os indicadores externos ou marcadores apresentam esta segunda nomeação pelo fato de aderirem “marcar” determinada estratificação (fase) da digesta, estas substâncias são adicionadas de forma artificial a dieta e/ou ao animal, consistem uma variedade de compostos inertes como o óxido crômico, os elementos terras raras (Lântano, Samário, Cério, Ytérbio, Disprósium), o rutênio fenantrolina, o cromo mordante, utilizados para fase sólida e o cobalto-EDTA, cromo-EDTA e o polietilenoglicol (PEG), utilizados para fase líquida.

2.1.1 *Indicadores Internos*

Os indicadores naturais (internos) são constituintes da dieta sendo desprovidos de alterações através do trato gastrointestinal, estes indicadores são estudados com finalidade de reduzir erros de amostragem por meio dos componentes indigestíveis do alimento. Os componentes indigestíveis da parede celular, sendo a fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) têm sido usados (ÍTAVO et al., 2002), a delimitação da concentração desses indicadores internos nos alimentos, sobras e fezes podem ser obtidos pela incubação ruminal em sacos de náilon ou incubação in vitro em líquido ruminal (FREITAS et al., 2002). Segundo Berchielli, (2003) dentre essas porções, as que demonstram maior potencialidade são as fibras em detergente neutro indigestível (FDNi) e em detergente ácido indigestível (FDAi). A FDNi e a FDAi estão entre os mais promissores indicadores internos para estimação da produção de matéria seca fecal (PMSF) de ruminantes (WATANABE et al., 2010). Segundo Berchielli et al. (2007), os indicadores internos apresentam confiabilidade

para calcular a digestibilidade, mas não para estimar o fluxo da digesta. Porém Ítavo et al., (2002) relatam que a FDAi, além de proporcionar estimativa da produção fecal, também torna-se útil como indicador para estimar fluxo de matéria seca (MS) no abomaso e íleo.

Os seguintes autores (Berchielli et al., 2000; Zeoula et al., 2002; Berchielli et al., 2005; Ferreira et al., 2009a) evidenciaram que o indicador FDNi pode ser considerado eficiente para determinar a excreção fecal e/ou fluxo duodenal. Segundo alguns autores a utilização da FDNi e/ou da FDAi, podem vir a proporcionar inadequadas estimativas (FREITAS et al., 2002; ZEOULA et al., 2002; FERREIRA et al., 2009a; SILVA et al., 2009). De acordo com grupo composto por Zeoula et al. (2002), recuperações impróprias desses indicadores podem ter ligação com problemas na filtragem durante as análises, inadequada digestão *in situ* no rúmen e perdas de fezes devido ao irregular tamanho dos poros da bolsa de náilon, sendo este último não mais utilizado. Berchielli et al. (2006), propôs que os erros de metodologias das análises desses indicadores continuam sendo os maiores problemas na aplicação da técnica.

2.1.2 Indicadores externos

Indicadores externos, tecnicamente chamados de marcadores são substâncias indigestíveis, ou compostos inertes que são adicionados de forma artificial a dieta ou animal. Podem ser divididos em marcadores de fase líquida, quando transitam com a fase líquida, e marcadores de fase sólida, quando transitam com as partículas sólidas do conteúdo digestivo (VALENTINI, 2012). Em definição, o marcador externo não deve ser assimilado pelas paredes do trato digestivo, deve ter característica indigestível e completamente recuperável nas fezes. Sua utilização pode ter dois objetivos: estimar a produção fecal para definir a digestibilidade ou consumo de pasto mas também para estudar parâmetros de fluxo digestivo (Berchielli et al., 2006). Esses marcadores podem ser administrados aos animais por via oral, por meio de fístula ruminal ou ainda por cápsulas de liberação lenta (VALENTINI, 2012).

De acordo com Cezimbra, (2010) são citados como exemplo de marcadores externos o óxido de cromo, óxido de ferro, as terras raras lantânio, dióxido de titânio, samário, cério, disprósio e itérbio (na forma de cloreto), o cromo mordantado, o polietilenoglicol (PEG), quelatos como o Co-EDTA, Cr-EDTA.

2.1.2.1 Dióxido de titânio (TiO_2)

O dióxido de titânio (TiO_2) é um pó sem odor ou gosto (FIGUEIREDO, 2011). Segundo Healy, (1968) o TiO_2 é encontrado em solos, no entanto raramente em plantas, pois, o mesmo apresenta insolubilidade em água, nas décadas atrás foi utilizado com finalidade de estimar consumo do solo pelos animais. Atualmente o TiO_2 vem sendo utilizado como marcador externo por mostrar determinação relativamente fácil e ser aprovado pela Food and Drug Administration (TITGEMEYER et al., 2001).

Este marcador é uma alternativa para substituição do óxido crômico (Cr_2O_3) que é amplamente utilizado, porém apresenta alta toxicidade e custo mais elevado que o TiO_2 . Ferreira et al., (2009a) afirmam que o dióxido de titânio apresentou bons resultados na recuperação fecal, Ferreira et al. (2009b), conduziram estudo avaliando o consumo de concentrado de vacas em lactação, e concluíram que o dióxido de titânio apresentou resultados confiáveis como marcador. Cezimbra, (2010) descreve que segundo Hafez et al. (1988), o TiO_2 pode ser utilizado na estimativa da digestibilidade em bovinos, pois estes autores relataram a recuperação fecal de 99%.

Ferreira et al. (2009a), ao utilizarem o marcador dióxido de titânio e outros marcadores externos e internos, em novilhas alimentadas com cana-de-açúcar para avaliarem a digestibilidade dos nutrientes notaram que o mesmo expressou valores similares à coleta total de fezes. Os mesmos autores realizaram outro estudo com vacas em lactação, alimentadas com silagem de milho como volumoso e esse autor e colaboradores não observaram comportamento semelhante para os dados obtidos para o dióxido de titânio e a coleta total de fezes. Mediante a metodologia de coleta das fezes, os seguintes autores concluíram que 3 dias são o bastante para estimativa de digestibilidade para com marcadores.

2.1.2.2 Cloreto de crômio complexado com EDTA (Cr -EDTA) e Cobalto EDTA

O Cloreto de crômio (Cr) complexado com EDTA é um quelato muito utilizado como marcador de fase líquida (Cezimbra, 2010). De acordo com Siddons et al. (1985), o Cr quando complexado com outros compostos, como o EDTA, é menos adsorvido pelo trato gastrointestinal e subsequentemente excretado na urina. Marcadores de trânsito de fluidos eficazes como Cr -EDTA e Co -EDTA são muito utilizados, por apresentarem à elevada correlação (0,93) entre taxas de passagem de fluidos determinadas por Cr e Co complexados

com EDTA (MAJAK et al., 1986). A grande vantagem do Cr-EDTA é sua distribuição homogênea por toda a fase líquida da digesta (CEZIMBRA, 2010), sendo por este motivo o marcador mais sugerido para descrever o fluxo de líquidos do trato gastrointestinal.

O cobalto-ácido etilenodiaminotetracético (Co-EDTA) é um indicador que é facilmente envolvido no meio, portanto, igualmente com o Cr-EDTA é um dos mais rotineiramente empregados na estimação do volume de líquido ruminal e da taxa de diluição (BERCHIELLI et al., 1996).

2.1.2.3 Cloreto de Itérbio ($YbCl_3$)

O Yb é um dos elementos terras-raras, apresentando maior abundância na crosta terrestre. Na forma de $Yb Cl_3$ pode ser utilizado principalmente para estimativas de fluxo de digesta (CEZIMBRA, 2010). Essas substâncias apresentam afinidade com a parede celular vegetal, sendo por este motivo utilizada nas avaliações de taxa de passagem da digesta em ruminantes. Cezimbra, (2010); Crooker et al., (1982) e Teeter et al. (1984), observaram a desvantagem do itérbio sob condições ácidas do abomaso, o qual é solubilizado. Beauchemin & Buchanan-smith (1989), Combs et al. (1992), discutiram que as terras raras têm sido criticadas por apresentarem possível diluição no líquido ruminal. No entanto o principal benefício da utilização do Yb é sua concentração fecal não variável num período de 24 horas de seleção de amostras (Owens & Hanson, 1992), demonstrando por sua vez que o Yb apresenta insolubilidade entre os compartimentos estomacais de ruminantes.

2.2 Ácidos graxos em dietas para ruminantes

Na natureza os lipídeos encontram-se em especial nas folhas e sementes dos vegetais. O tipo pode variar sendo fosfolipídios e galactolipídios presentes nas folhas de plantas e triglicerídeos como substância de reserva nas sementes. Porém são encontrados nos vegetais: ceras, carotenóides, clorofila, óleos essenciais, e outras substâncias lipossolúveis (KOZLOSKI, 2011). Nutricionalmente os ácidos graxos (AG) são fonte expressiva de energia, aproximadamente 9,0 kcal/g, apresentando valor 2,25 vezes maior que o obtido em carboidratos (REDDY et al. 1994), e proteínas. Segundo Vargas et al. (2002), para aumentar a concentração energética da dieta em vacas leiteiras, tornasse necessário elevar a proporção de alimentos concentrados na mesma, porém o fornecimento máximo de concentrado deve ser restringido, tomando-se consciência da necessidade do mínimo de fibra na dieta para o funcionamento normal do rúmen e regularidade dos teores de gordura do leite. A dieta de ruminantes é caracterizada por apresentar inclusões baixas de lipídios, geralmente em torno de 3%, em contra partida o percentual de ácidos graxos encontrado em sementes oleaginosas varia entre 18 à 40%.

De acordo com Freitas Junior (2012), em sua grande maioria os ácidos graxos disponíveis em natureza apresentam número de carbonos que varia entre 14 a 24, sendo divididos em duas classes, os saturados (todos os carbonos com ligações simples), ou insaturados (com no mínimo uma ligação dupla). Araújo, (2013) cada alimento apresenta um tipo de ácido graxo específico, onde os cereais e sementes oleaginosas, em geral tem em sua constituição o ácido linoleico (C18:2 omega-6), e forrageiras o ácido graxo mais comum é o α -linolênico (C18:3 omega-3). Para Palmquist e Mattos (2006), algumas exceções ocorrem, como óleo de palma (rico em C16:0), óleo de canola (C18:1 omega-9) e o óleo de linhaça (C18:3 omega-3), Freitas Junior (2012) cita que os produtos marinhos (óleos de peixe, algas etc.) são ricos em ácidos graxos de cadeia longa (em especial o ácido eicosapentanóico (EPA) - C 20:5, n-3 e o ácido decosapentanóico (DHA) - C22:6 n-3).

A ingestão de energia torna-se a principal limitação para a produção de leite, sendo este adquirido através da concentração energética da dieta e taxa de consumo. O uso de fontes de ácidos graxos em dietas de vacas leiteiras, tem sido e vem sendo prática comum na alimentação animal, em especial por permitir melhoria no balanço energético desses animais.

A suplementação com lipídios para vacas em lactação promove aumento da densidade energética da dieta sem reduzir o seu conteúdo de fibras, dessa forma, proporciona maior

consumo de energia refletindo em aumento na produção de leite (ARAÚJO, 2013). São inúmeras as vantagens da inclusão de ácidos graxos nas dietas de ruminantes como: evitar perda excessiva de peso, diminuir a probabilidade da baixa eficiência reprodutiva, flexibilidade para o preparo da ração; redução na necessidade de concentrados ricos em carboidratos os quais são exigidos no início da lactação, quando as vacas mantem-se em balanço energético negativo; em estado de tempo com temperaturas elevadas os lipídeos podem ajudar a reduzir o estresse térmico.

Segundo Grummer, (1990) e Staples et al. (2001), a adaptação e a aceitabilidade das fontes de gordura durante a fase de suplementação são pontos importantes para respostas satisfatórias no desempenho dos animais, quando se inicia o objetivo de estudar diferentes fontes de gordura nas rações de vacas leiteiras, respostas variadas são esperadas sendo estas relacionadas ao tipo e nível de inclusão do suplemento na ração. As diferenças na aceitabilidade de variadas fontes de gordura podem ser reduzidas incorporando-se os suplementos aos outros ingredientes da dieta (GRUMMER et al., 1990). Segundo o NRC (2001), embora a concentração energética dos lipídios seja maior que a dos carboidratos e proteínas, elevadas quantidades de lipídios além de reduzir o consumo de matéria seca, pode diminuir a quantidade de energia ingerida. De acordo com Medeiros, (2009) o valor crítico de gordura na dieta estabelecido é de acima que 6% na matéria seca (MS) podem comprometer a degradação ruminal devido ao efeito tóxico direto dos ácidos graxos insaturados aos microrganismos e efeito físico pelo recobrimento das partículas alimentares, com consequente redução do contato destes com agentes de digestão.

Ao disponibilizar dietas com elevados teores em lipídios pode ser observado efeito tóxico sobre as bactérias gram-positivas do rúmen, gerando modificação da relação acetato : propionato, aumento da produção de propionato. Segundo Eifert et al. (2006), a síntese microbiana é aumentada quando lipídios substituem parte do concentrado na dieta. Segundo Nagaraja et al. (1997), o uso de óleo de soja nas dietas vem a proporcionar o efeito defaunatório, viabilizando maior crescimento bacteriano em razão de uma menor predação.

2.3 Digestão e metabolismo de ácidos graxos

Cada vez mais a digestão dos lipídeos em ruminantes vem merecendo atenção devido à inclusão deste nutriente em dietas destes animais, antes baseada quase exclusivamente em pastagens. No entanto nos tempos atuais, esses suplementos vêm recebendo maior atenção e estão sendo usados nas dietas, com a finalidade de otimizar o desempenho produtivo dos animais. Como exemplo podem ser citadas a suplementação de vacas destinadas a produção de leite, onde estas vêm se tornando cada vez mais exigentes nutricionalmente.

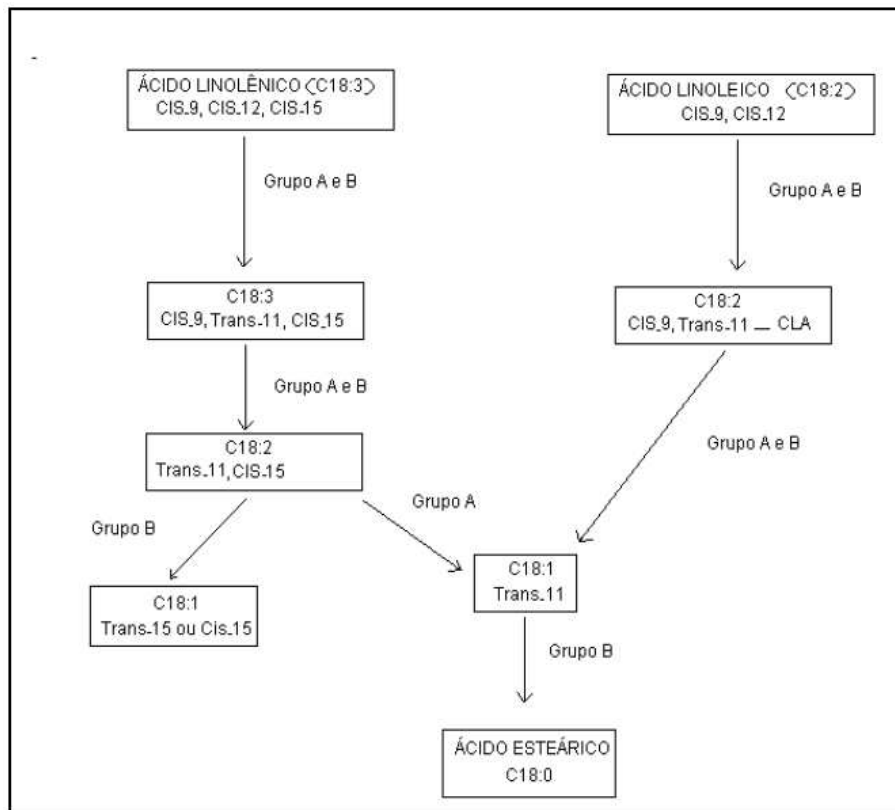
De maneira geral a digestão de lipídeos em animais ruminantes é resumida em duas etapas principais: lipólise e biohidrogenação dos ácidos graxos insaturados. De acordo com Bassi, (2010) os lipídios presentes nas dietas estão, em sua grande maioria, no estado esterificado, no entanto as bactérias responsáveis pela biohidrogenação exercem atividade somente sobre ácidos graxos livres (AGL). Contudo a lipólise tornasse, um pré-requisito para permitir a liberação dos ácidos graxos livres e glicerol.

Os lipídeos que atingem o rúmen através das vias digestivas sofrem vasta hidrólise, onde os triacilgliceróis, galactolipídios e fosfolipídios dispõem ácidos graxos livres (AGL) e glicerol por atuação de lipases de natureza extracelular sendo produzidas pelos microrganismos ruminais. A hidrólise é predominantemente realizada pelas bactérias ruminais, sendo geralmente alta (>85%) e podendo ser influenciada por alguns fatores, como o nível de gordura na dieta, pH ruminal e a utilização de ionóforos, que podem inibir a atividade e crescimento de bactérias (DOREAU e CHILLIARD, 1997). Segundo Harfoot & Hazlewood, (1997) não são todas as bactérias que possuem atuação lipolítica, acontecendo o mesmo com os protozoário e fungos do rúmen. No entanto parece que o *Anaerovibrio lypolitica* é o principal microrganismo envolvido na atuação hidrolítica de triacilgliceróis e o *Butyrivibrio fibrosolvans* no processo hidrolítico de fosfolipídios e galactolipídios. Outras bactérias da espécie *Butyrivibrio* têm sido estudadas por sua atividade esterase e podem quebrar AG livres de fosfolipídios e galactolipídeos (HAZLEWOOD E DAWSON, 1979).

De acordo com Fay et al. (1990), foram identificadas 74 cepas de bactérias ruminais que foram capazes de hidrolisar ligações éster. Essas enzimas hidrolisam triacilgliceróis completamente para ácidos graxos livres (AGL) e glicerol, com pouca acumulação de mono ou diacilglicerídeos (HAWKE, 1970). O glicerol é fermentado rapidamente, produzindo ácido propiônico como produto final (D'ANGELO, 2009).

O processo de biohidrogenação pode ser considerado um mecanismo de autodefesa dos micro-organismos ruminais, pois os ácidos graxos saturados são menos tóxicos à população microbiana ruminal (BASSI, 2010). Embora a biohidrogenação possa ser alta, o processo é dependente das características das fontes de lipídeos, tempo de retenção da fonte no rúmen e características da população microbiana (ALLEN, 2000).

O primeiro esquema sobre a teoria da biohidrogenação foi proposta por (Davis e Brown, 1970). Após a hidrólise os ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) tornaram-se disponíveis a ação microbiana para a atividade de biohidrogenação, onde essa é iniciada pela isomerização da ligação *cis*-12 dos ácidos linoleico e linolênico à ligação *trans*-11, que quando resultante do ácido linoleico forma o ácido graxo C18:2 AG *cis*-9, *trans*-11, ou ácido linolênico conjugado (CLA) (Figura 1).



Fonte: Davis e Brown (1970), elaborada Pennington e Davis (1975).

Figura 1. Biohidrogenação ruminal dos ácidos linoleico e linolênico.

Dando sequência, a dupla ligação *cis*-9 é hidrogenada, gerando C18:1 *trans*-11 e C18:2 *trans*-11, *cis*-15 para os ácidos linoleico e linolênico, respectivamente. O C18:2 *trans*-11, *cis*-15 sofre uma hidrogenação na dupla ligação *cis*-15, produzindo também C18:1 *trans*-11, o qual também acaba sendo hidrogenado na C18:1 *trans*-11, resultando em ácido esteárico (Figura 1). As bactérias envolvidas na biohidrogenação têm sido determinadas como grupos A

e B, (KEMP; LANOER, 1984). Tornasse importante que para obter uma biohidrogenação completa de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) a presença dos grupos A e B de bactérias são necessários. A atividade específica dos diferentes grupos microbianos (A e B) na ação de introdução de íons H^+ nos ácidos graxos poli-insaturados no rúmen também é evidenciado na (Figura 1). O grupo A hidrogena os ácidos linoleico e linolênico somente a C18:1 *trans*-11, no entanto o grupo B é capaz de hidrogenar ácidos graxos monoinsaturados a ácido esteárico. Kepler et al. (1970), relataram que neste esquema a espécie *Butyrivibrio fibrisolvens* já havia sido reconhecida como a principal bactéria responsável pela biohidrogenação de ácidos graxos insaturados no rúmen.

Devido ao aparecimento do processo de biohidrogenação de ácidos graxos insaturados no rúmen, a estrutura química dos ácidos graxos da dieta é modificada, e o perfil de ácidos graxos que atinge o abomaso é alterado, com maiores concentrações do ácido esteárico (C18:0) encontradas na digesta abomasal (HAVERTINE; ALLEN, 2006). Por outro lado, a biohidrogenação pode ser menor, estando subordinada pela concentração de hidrogênio (H) no rúmen, onde somente 1 a 2% do hidrogênio metabólico é usado para este processo (CZERKAWSK, 1984).

Sobre a digestão pós-rúmen, são várias as diferenças que demonstram a singularidade da digestão de gorduras em ruminantes. Em virtude da lipólise dos triglicerídeos ter ocorrido quase completamente no rúmen, os ácidos graxos estão na forma não esterificada e protonada, e adsorvidos nas partículas dos alimentos. A bile funciona como detergente para promover a retirada dos ácidos graxos dessas partículas, em vez de emulsificar os triglicerídeos, como em animais monogástricos (PALMQUIST; MATTOS, 2006). A quantidade de lipase presente em ruminantes é apenas 25% daquela notada em suínos. Segundo Baumman; Lock, (2006); Palmquist; Mattos, (2006) a bile presente em ruminantes é fonte importante de lecitina que quando hidrolisada pela enzima pancreática fosfolipase produz o 1-Acil isolecitina e o ácido oleico, sendo que essas substâncias funcionam como poderosos agentes emulsificantes. Bassi, (2010) cita Jenkins, (1995) na afirmação de que o processo de saturação de ácidos graxos pelos microrganismos ruminais, ou seja, a biohidrogenação tem como objetivo reduzir proteger a integridade das membranas lipoprotéicas microbianas.

2.4 Consumo de matéria seca

A ingestão de matéria seca pode ser utilizada como avaliador do desempenho animal, inúmeros fatores podem afetar o consumo de alimento de bovinos como: característica do alimento, local, ambiente e a integração dos animais. De acordo com Van Soest (1994), a ingestão de alimento com menor digestibilidade e baixa energia é controlado por fator físico, como enchimento ruminal, enquanto que o consumo de dietas com elevada digestibilidade e alta energia é controlado pelo atingimento da demanda energética do animal. Souza, (2013), Kennedy, (1953) relata que a regulação do balanço energético é intermediada por um composto do metabolismo existente na circulação sanguínea que age reciprocamente com receptores associados com o sistema nervoso central. Neste contexto, quando as reservas energéticas estão elevadas, o centro da saciedade no hipotálamo tornasse ativo, provocando diminuição da ingestão de alimentos. Durante o jejum contínuo, as reservas de tecido gordo são utilizadas para produção de energia, sendo acompanhado do aumento do apetite, esta teoria é denominada lipostática.

A suplementação com gordura em rações de vacas leiteiras, pode proporcionar diminuição na digestibilidade da matéria seca acarretando redução do CMS. Porém tornasse preciso considerar que ao avaliar o CMS de vacas suplementadas com ingredientes ricos em gordura, uma série de parâmetros estão relacionados, sendo os essenciais, a digestibilidade da fração fibrosa, o tipo de volumoso utilizado, a fonte e nível de gordura utilizado, e o estágio de lactação no qual se iniciou a suplementação de gordura (NRC, 2001; STAPLES et al., 2001; ONETTI E GRUMMER, 2004). Souza, (2013) em estudo de revisão relata que ácidos graxos insaturados podem ter relação com o menor consumo, este resultado pode estar diretamente ligado a redução da digestão da porção fibrosa no rúmen.

Ueda et al., (2003) avaliaram a suplementação de óleo de soja em 4 e 6% da matéria seca total, utilizando feno de gramínea na proporção volumoso: concentrado de 65:45 respectivamente, e não foi observado diminuição no consumo de matéria seca (CMS). Outros autores também relatam que ao incluir fontes de ácidos graxos em dietas de vacas não observaram redução do consumo de matéria seca. No entanto os resultados, as suplementações podem ser maiores ou menores referente ao CMS, afinal independente da adição de gordura, diminuições no consumo podem ocorrer devido ao estágio produtivo em que a vaca esteja. D`Angelo, (2009) descreve que nos estudos desenvolvidos por Onetti e Grummer, (2004) as dietas tinham inclusão média de 3,6% de extrato etéreo, e houve

diminuição do consumo no início e terço médio de lactação, embora as vacas em início de lactação possam ser mais beneficiadas pelos suplementos do que vacas no terço médio.

2.5 Fermentação ruminal

O rúmen é um órgão oco, sendo o compartimento que apresenta maior volume dentre os quatro compartimentos em animais poligástricos. Os ruminantes apresentam dois sistemas metabólicos que destingem-se em relação a suas exigências nutricionais: o metabolismo microbiano ruminal e o metabolismo dos tecidos animais. A busca pelo melhor desempenho produtivo dos ruminantes envolve, obrigatoriamente, o fornecimento de alimentos e as condições que possam suprir as necessidades dos dois sistemas (GONSALVES, 2009). A fermentação ruminal em animais ruminantes é o resultado da atividade física e microbiana, a qual converte os alimentos consumidos a ácidos graxos de cadeia curta, proteína microbiana, vitaminas do complexo B, vitamina K, metano, dióxido de carbono, nitrato, amônio dentre outros resultantes (BERCHIELLI, 2006). A manutenção de uma população microbiana ruminal ativa depende de algumas características ruminais que são mantidas pelo animal hospedeiro, como o suprimento de alimento mastigado ou ruminado, a remoção dos produtos de fermentação, adição de tamponantes, a manutenção dos valores de pH, temperatura, anaerobiose e umidade ideais ao crescimento microbiano. De acordo Kozloski (2002), o rúmen é composto por três tipos de microrganismos funcionais no seu interior: bactérias, fungos e protozoários, sendo que as bactérias representam de 60 a 90% da biomassa microbiana com cerca de 200 espécies. A figura 01 exemplifica de forma simples os principais eventos envolvidos no processo de fermentação ruminal.

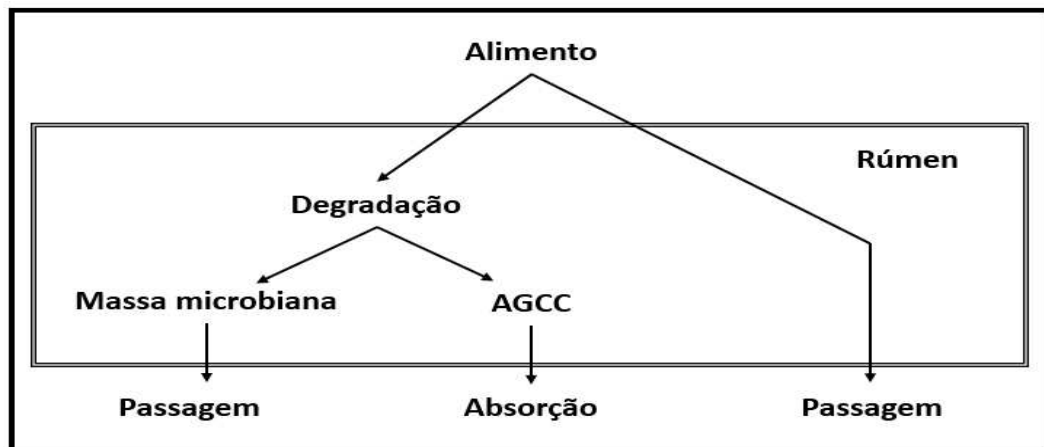


Figura 2. Representação esquemática dos processos metabólicos no rúmen.

Adaptado de Dijkstra et al., (2003).

Fonte: Berchielli, 2006

Segundo Jenkins, (1993), a variação dos efeitos das fontes de gordura sobre a fermentação ruminal pode ser causada pelas diferenças entre as estruturas dos lipídios. A insaturação dos ácidos graxos pode ser considerada a característica essencial das gorduras quando utilizadas como fonte de energia nas rações de ruminantes. Isso pelo fato de que os ácidos graxos insaturados podem inibir a fermentação ruminal em relação a ácidos graxos saturados. A digestão ruminal de carboidratos compostos por ligações tipo beta pode ser reduzida entre 40 em 50% quando menos de 10% de gordura é inserida nas rações. Esta redução na digestão é seguida pela diminuição na produção de metano, hidrogênio, e ácidos graxos voláteis, incluindo baixa relação acetato: propionato. Desta forma incluindo fontes de lipídios na alimentação de animais ruminantes a fermentação pode ser comprometida devido redução da digestibilidade da fração fibrosa. De acordo com Palmquist, (1988), a ação dos ácidos graxos sobre a degradabilidade ruminal de nutrientes pode ser reduzido se a dieta contiver alta quantidade de volumoso, isso podendo ser evidenciado principalmente pela capacidade da forragem em conservar o funcionamento normal do rúmen.

Ueda et al. (2003), relata que os efeitos de ácidos graxos insaturados na digestão ruminal não são fixos, onde o tipo de volumoso empregado durante a suplementação pode ser considerado fator preponderante para que isso ocorra. Freitas Junior (2012), em revisão descreve que Onetti e Grummer (2004), enfatizaram que a utilização de silagem de milho como volumoso pode causar mudanças na população bacteriana no rúmen, favorecendo organismos responsáveis pela formação de *trans*-10, *cis*-12 CLA, e isômeros *tras* de C18:1, ou seja, favorecendo o processo de biohidrogenação que causa a formação de CLA específico, reduzindo a síntese de gordura do leite (BAUMMAN; GRINARI, 2001).

2.6 Grão de Soja

A alimentação de vacas leiteiras tem se tornado um assunto de alta prioridade, face as relações entre os custos dos insumos o preço do leite (DERESZ et al., 1996). Entre as diferentes fontes de proteína e gordura disponíveis para serem utilizadas na alimentação de ruminantes no Brasil, o grão de soja se destaca pela grande disponibilidade e custo compatível com seu rico conteúdo de nutrientes. Dentre os alimentos de origem vegetal com característica proteica a soja se destaca como fonte de proteína e carboidratos, sendo considerada semente oleaginosa, apresentando potencial de ser utilizada na alimentação de animais ruminantes em estado natural ou processada (CORRÊA, 2007). devido seu elevado

valor energético, tem-se aumentado o uso do grão de soja nas dietas de vacas de alta produção para elevar a densidade energética das dietas (GONSALVES, 2009), proporcionando aumento da relação volumoso: concentrado na ração, reduzindo os problemas metabólicos relacionados com ingestão excessiva de amido (PALMQUIST, 1991).

Por apresentar composição de aproximadamente 39,3% de proteína bruta, 19,2% de extrato etéreo e 95% de NDT, o grão de soja tem sido utilizado na alimentação de ruminantes com o propósito de ser fonte de proteína, e por também apresentar uma fibra de alta digestibilidade, e com efetividade mediana (VALADARES FILHO, 2006). Freitas Junior (2012), cita que entre as características nutritivas da soja integral na nutrição de ruminantes destaca-se a alta quantidade de proteína degradável no rúmen (PDR), que pode ser convertida em proteína não degradada no rúmen (PNDR) por meio de tratamento térmico, e ao seu alto teor de energia devido ao elevado teor de extrato etéreo. A elevação dos teores de PNDR na dieta pode ser exigido em animais de alta produção, desde que as fontes dietéticas que serão processadas tenham um satisfatório perfil de aminoácidos essenciais e não proporcionem diminuição da produção de proteína microbiana no rúmen (SANTOS et al., 1998).

De acordo com Staples; Burke; Thatcher, (1998) os lipídeos da soja são ricos em ácido linoleico (C18:2 c9, c12), um ácido graxo essencial que deve ser suprido pela dieta e que é capaz de atuar positivamente sobre a função ovariana, uterina e embrionária de vacas leiteiras. Entre as vantagens de uso do grão de soja integral como fonte de gordura pode ser citada a lenta liberação de lipídios no rúmen, não superando a capacidade de hidrogenação dos microrganismos ruminais, impedindo possível perda de digestibilidade de fibra pelo efeito negativo que gorduras insaturadas prontamente disponíveis no rúmen podem causar nas bactérias fibrolíticas (COPPOCK e WILKS, 1991; PALMQUIST, 1991).

2.7 Óleo de soja

Inúmeras fontes de lipídios vêm sendo empregadas em rações de vacas destinadas a produção de leite, no entanto cada uma delas apresentam particularidades específicas que resultam em diferentes resultados sobre a fermentação ruminal, digestibilidade dos nutrientes, consumo de matéria seca e produção.

De acordo com D' Angelo (2009), os produtos à base de soja apresentam um elevado percentual de ácidos graxos insaturados, em especial o óleo de soja, que apresenta em média 75% de insaturação. Ueda et al. (2003), relatam que há uma deficiência de informações sobre

o uso de óleo de soja na digestibilidade de vacas leiteiras, em especial em início de lactação, da mesma forma, poucos estudos tem mostrado os efeitos alcançados referentes parâmetros reprodutivos.

Rações de ruminantes normalmente apresentam aproximadamente de 2,5 a 3,0% de extrato etéreo, portanto torna-se importante que a suplementação com fontes lipídicas leve em consideração a quantidade e a fonte de ácidos graxos a ser utilizada para que não haja mudanças na fermentação ruminal, visto que as gorduras insaturadas possuem efeitos negativos sobre microrganismos ruminais (PALMQUIST, 1991; JENKINS, 1993). Eifert et al. (2006), comparando diferentes fontes de amido com a inclusão de 0% ou 2,25% de óleo de soja nas dietas de vacas em período de lactação relatou que a utilização de óleo de soja na dieta reduziu o consumo e não alterou o nível de produção, elevou a eficiência alimentar e alterou a composição do leite. Segundo Onetti et al. (2001), a uso de óleo de soja nas dietas de vacas em fase inicial de lactação não tem proporcionado diminuições no consumo de matéria seca, sendo a solução ligada a excelência da FDN da forragem e da proporção volumoso: concentrado.

Huang et al., (2008) estudaram o efeito da inclusão de 5% de óleo de soja na matéria seca total em dietas para 36 vacas da raça Holandesa no terço médio de lactação, analisando-se os parâmetros de fermentação ruminal e o perfil de ácidos graxos da gordura do leite. O volumoso foi composto por silagem de milho e feno de alfafa. Os autores concluíram que a suplementação de gordura obteve pouco ou nenhum efeito referente a fermentação ruminal. Santos et al., (2009) incluindo 3% de óleo de soja no concentrado de vacas que estavam no período de transição concluíram que os ácidos graxos insaturados não exerceram influência no consumo e no desempenho produtivo, no entanto elevaram a ingestão de energia.

De acordo com Lin et al. (1995), o uso de óleo em dietas para ruminantes, apresenta efeitos satisfatórios na produção e desempenho animal como inibição da produção de metano, elevação na eficiência da síntese de proteína microbiana ruminal e acréscimo de ácido linoleico conjugado (CLA) no leite. Vargas et al. (2002), testaram a inclusão de 4,6% de óleo de soja na matéria seca total, em dietas tendo como base a silagem de sorgo para vacas mestiças Holandês-Zebu com aproximando-se aos 30 dias de lactação, avaliando-se o consumo de matéria seca e fermentação ruminal. De acordo com os autores os lipídios insaturados da dieta inibiram as bactérias ruminais gram-positivas e favoreceram as bactérias geradoras de propionato, acarretando diminuição na relação acetato: propionato e produção de

metano, onde a elevação da proporção molar de propionato se deu devido a redução da produção de acetato e butirato.

2.8 Sais de cálcio de ácidos graxos

Inúmeros suplementos comerciais contendo lipídios que não interagem no rúmen estão disponíveis no mercado. No entanto o mais comum deles são sais ou sabões de cálcio produto estes da reação de íons cálcio com o grupamento carboxil de ácidos graxos saturados ou insaturados (JENKINS; PALMQUIST, 1984). Segundo Nörnberg et al. (2006), o uso do lipídio protegido na produção leiteira tem sido estudado por apresentar também vantagens no ponto de vista econômico, pois representa uma alternativa para o produtor amenizar os aumentos no custo dos insumos e a redução das margens de lucro da atividade leiteira. Os sais de cálcio de ácidos graxos (SCAG) mantem-se sólidos em temperatura ambiente, apresentam baixa solubilidade no fluído ruminal e em teoria são supostamente pouco hidrogenados pelos microrganismos do rúmen.

Pesquisas executadas por volta de 1980, demonstraram que a suplementação com sais de cálcio de ácidos graxos de palma fornecidos em até 10% da matéria seca da dieta, não promoveu reduções na digestibilidade da fibra no rúmen, evidenciando a inação ruminal dos sais de cálcio em inclusões dietéticas superiores as geralmente utilizadas em rebanhos comerciais (Dias Junior, 2011). O trabalho realizado por Jenkins e Palmquist, (1984) é tido como um clássico em demonstrar que a digestibilidade da fibra foi superior quando 4,5% de gordura foi suplementada na forma de sabão de cálcio de ácidos graxos de sebo em comparação a sebo livre.

Segundo Dias Junior (2011), o complexo ácido graxo e cálcio se mantém intacto pelo rúmen, se dissociando no meio ácido do abomaso. A inclusão de sais cálcio de ácidos graxos na dieta de vacas leiteiras de alta produção pode gerar diferentes efeitos sobre a fermentação ruminal de acordo com a fase de lactação. Há uma redução significativa da relação acetato: propionato para os animais no início de lactação, provavelmente pela grande variação existente no consumo (MATURANA FILHO, 2009). Os lipídios apresentam aproximadamente 2,25 vezes mais energia que os carboidratos, no entanto, de uma certa forma a dieta de ruminantes tem pequenos incrementos com lipídios, sendo sua grande maioria da dieta composta por carboidratos. Maturana Filho, (2009) em revisão relata que de acordo com (BUTLER, (2004); ONETTI; GRUMMER, (2004) ao passar da lactação a

diminuição da relação acetato: propionato ocorre também nas vacas em terço médio de lactação, podendo estar ligado pelo aumento do consumo de matéria seca, que por consequência modifica a taxa de passagem, podendo reduzir a degradação da fibra, acarretando uma menor produção de ácidos graxos voláteis, especialmente o acetato e ocorrendo uma redução da porcentagem de gordura no leite.

Quando os (SCAG) chegam ao abomaso ocorre liberação dos ácidos graxos, devido ao menor pH em relação ao rúmen, ficando livres para serem absorvidos no duodeno (Silveira, 2010). Segundo Palmquist e Jenkins (1980), a gordura é limitada a 5 a 6% na MS da dieta, onde valores superiores podem interferir a fermentação ruminal, através do efeito que ocorre sobre as sobre as partículas do alimento e/ou microrganismos, dificultando a ação das bactérias celulolíticas no rúmen. Klusmeyer et al. (1991), avaliaram o uso de sais de cálcio em 4% da dieta total em vacas fistuladas no rúmen e duodeno e, notaram um percentual de 33% referente a biohidrogenação, deduzindo que os ácidos graxos são parcialmente amparados contra a degradação ruminal. Araújo, (2013) em estudo de revisão relatou que sais de cálcio de ácidos graxos elevaram à produção de leite, não alterando a digestibilidade da dieta, em estudos conduzidos por ERICKSON E MURPHY e CLARK (1992); KLUSMEYER et al., (1991).

Chouinard, Girard e Brisson (1998) afirmaram que os sais de cálcio de linhaça quanto óleo de soja não foram capazes de elevar a concentração de ácido linolênico e linoleico no leite, respectivamente, e chegou à conclusão de que aparentemente os sais de cálcio desses ácidos graxos não foram eficazes na proteção contra a biohidrogenação ruminal.

Schauff e Clark (1992) avaliaram a suplementação de sais de cálcio de ácidos graxos de óleo de palma com níveis de 0, 3, 6 e 9% da MS total em vacas Holandesas fistuladas no rúmen em início de lactação, utilizando-se como volumoso feno de alfafa moído e silagem de milho. Os autores notaram que o consumo de matéria seca reduziu acompanhando com o aumento dos níveis de sais de cálcio na dieta, fixado como nível ótimo 6% da MS. Apesar de ocorrer redução no consumo de matéria seca em alguns estudos Jenkins (1993), relata que normalmente o consumo de energia líquida não é reduzido, ou seja, o aumento na densidade energética das rações compensaria a redução no consumo, não afetando a produção de leite.

De acordo com Wang et al., (2010), os resultados da suplementação de ácidos graxos protegidos no rúmen referentes a ingestão de matéria não vêm apresentando solidez e declaram que a proteção dos ácidos graxos não é completa, fato este sendo relatado em estudos anteriores.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local, instalações e animais

O experimento foi conduzido nas dependências do Laboratório de Pesquisa em Bovinos de Leite do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Foram utilizadas 4 vacas da raça Holandesa, múltíparas, não-lactantes, canuladas no rúmen e abomaso (Crocker et al., 1998; Robinson et al., 1985). Os animais foram alojados em estábulo tipo “free-stall”, em baias individuais. Foi avaliado o consumo e a correta administração das dietas experimentais de forma que se tivesse o controle individual do consumo diário de matéria seca. Imediatamente antes do início do experimento, o peso de corpo vazio das vacas foi determinado removendo todo o conteúdo ruminal (Havertine e Allen, 2006). Os animais permaneceram cerca de 1 hora em um curral de descanso, de forma a avaliar ocorrência de cios, e ao mesmo tempo, permitir que as vacas se exercitassem. As vacas selecionadas apresentavam características semelhantes entre si. As variáveis utilizadas para a seleção dos animais foram: produção de leite na lactação anterior; peso corporal; ordem de partos e escore de condição corporal.

3.2 Dietas Experimentais e Análise de Alimentos

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quadrado latino 4 x 4. O experimento foi constituído por quatro períodos, com duração de 22 dias cada um, sendo os 12 primeiros dias de adaptação às dietas e os demais para avaliar as variáveis mensuradas. Os animais foram alimentados com quatro dietas durante o período experimental, formuladas para serem isonitrogenadas, de forma a atenderem as exigências nutricionais de vacas secas com aproximadamente 600 kg de peso corporal, conforme recomendações do NRC (2001): 1) Controle (CT), composto por uma dieta basal de aproximadamente 3,0% de extrato etéreo; 2) Óleo de soja (OS), composto por uma dieta com aproximadamente 6,0% de extrato etéreo, baseada na inclusão de 3% de óleo de soja refinado na matéria seca total ; 3) Grão de soja (GS), composto por uma dieta com aproximadamente 6,0% de extrato etéreo, baseada na inclusão de 16% grão de soja “in natura” na matéria seca total; e 4) MEGALAC-E® (Química Geral do Nordeste e Arm & Hammer, Inc.) (MG), composto por uma dieta com aproximadamente 6,0% de extrato etéreo, baseada na inclusão de 3% de MEGALAC-E na

matéria seca total. As respectivas dietas e água foram fornecidos “*ad libitum*” durante todo período experimental. O volumoso utilizado durante o experimento foi silagem de milho. O percentual referente a composição dos ingredientes e química das dietas experimentais junto com a composição química obtida para os ingredientes estão presentes nas tabelas 1, 2.

Tabela 1. Composição percentual dos ingredientes e química das dietas experimentais

Ingrediente (% MS)	Dietas Experimentais			
	CT ¹	OS ²	GS ³	SCAG ⁴
Silagem de milho	80,00	80,00	80,00	80,00
Milho moído	11,48	7,49	2,28	7,28
Farelo de soja	6,01	7,01		7,01
Óleo de soja		3,00		
Grão de soja			16,02	
Sais de Cálcio de ácidos graxos				3,20
Uréia	1,13	1,13	0,32	1,13
Sulfato de amônia	0,16	0,16	0,16	0,16
Fosfato bicálcico	0,25	0,25	0,25	0,25
Calcário	0,30	0,30	0,30	0,30
Mineral ⁵	0,25	0,25	0,25	0,25
Núcleo ADE	0,12	0,12	0,12	0,12
Sal comum	0,30	0,30	0,30	0,30
Composição Química – Bromatológica				
Matéria seca	44,25	44,44	45,21	44,36
Matéria orgânica	93,73	90,74	79,15	90,72
Proteína bruta	13,55	13,71	13,59	13,70
Extrato etéreo	2,51	5,36	5,08	5,10
Fibra em detergente neutro	34,97	34,70	32,63	34,67
Carboidratos não fibrosos	48,37	45,49	39,85	45,32
Matéria mineral	4,73	4,73	4,26	4,79
FDNi	14,30	14,25	14,30	14,25

¹CT = Controle; ²OS = Óleo de soja; ³GS = Grão de soja; ⁴SCAG = Sais de cálcio de ácidos graxos, (Megalac-E®); ⁵Níveis de garantia (com base na matéria seca): Co, 125 g/kg; Mn, 18125 mg/kg; Cu, 5625 mg/kg; S, 9 mg/kg; Cu, 312 mg/kg; Fe, 5000 mg/kg; Se, 144 mg/kg; Zn, 23750 mg/kg; vitamin A, 2000 IU/kg; vitamin D, 500 IU/kg; and vitamin E, 12500 IU/kg; ⁶Valor expresso em % da matéria seca.

Tabela 2. Composição química obtida para os ingredientes

Itens	Silagem de milho	Farelo de soja	Milho moído	Grão de soja	Sais de cálcio	Óleo de soja	Uréia
MS ¹	35,0	92,11	93,34	94,17	97,23	99,88	-
MO ²	95,94	94,14	98,59	95,18	75,24	-	-
MM ³	4,06	5,86	1,41	4,82	24,76	-	-
PB ⁴	8,02	50,0	8,4	38,0	-	-	280,00
EE ⁵	2,41	1,89	4,04	19,09	85,77	99,88	-
FDN ⁶	40,41	20,93	12,07	18,0	-	-	-
CNF ⁷	47,51	23,21	78,12	39,18	-	-	-
FDNi ⁸	17,61	0,84	1,44	1,14	-	-	-

1 Matéria seca (MS%); Matéria orgânica (MO%); 3 Matérias mineral (MM); 4 Proteínas bruta (PB%); 5 Extratos etéreo (EE%); 6 fibras em detergente Neutro (FDN%); 7 Carboidratos não fibrosos (CNF%) estimados segundo HALL (1998); 8 Fibras em detergente neutro indigestível (FDNi%).

Diariamente foram realizadas as pesagens das quantidades dos volumosos e concentrados fornecidos e das sobras de cada tratamento, para estimativa do consumo. Os animais foram arraçoados de acordo com o consumo de matéria seca no dia anterior, de forma a ser mantido um porcentual de sobras das dietas, diariamente, entre 5 e 10% do fornecido com finalidade não promover limitação de consumo. Após o preparo da mistura no cocho, as amostras dos alimentos fornecidos foram coletadas e armazenadas a -20° C.

Os teores de fibra detergente neutro foram obtidos conforme método descrito por Mertens et al. (1997). A fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) foi determinada como resíduo de FDN depois de 288 horas de incubação no rúmen (INCT-CA) (Detmann et al., 2012). Para avaliação dos teores dos componentes indigestíveis, as amostras processadas foram acondicionadas em sacos de tecido não-tecido (TNT-100g/m²), com dimensões de 4 x 5 cm. As alíquotas foram acondicionadas em todos os sacos, segundo a relação de 20 mg de matéria seca por centímetro quadrado de superfície (Nocek, 1988).

Antes da incubação das amostras duas vacas da raça Holandesa foram adaptadas durante 7 dias com ração a base de farelo de soja e milho moído, e recebendo silagem de milho como volumoso. Posteriormente ao período de adaptação dos animais, as amostras foram incubadas no rúmen, segundo adaptação de técnica descrita por (Casali, 2008).

Após a retirada do rúmen os sacos foram lavados com água corrente até total clareamento desta, e imediatamente conduzidos à estufa de ventilação forçada (60°/72 horas). Após este período, os sacos foram submetidos à secagem em estufa não ventilada (105°/45 minutos), sendo retirados, acondicionados em dessecador (20 sacos/dessecador), e pesados, obtendo-se a matéria seca indigestível.

Posteriormente, as amostras foram submetidas ao tratamento com detergente neutro (Mertens, 2002) por uma hora, em equipamento analisador de fibra Ankon®. Após este período foram lavados com água quente e acetona, sendo secos e pesados conforme procedimento anterior. Ao final deste tratamento, obteve-se a FDNi.

3.3 Coletas Reticular, Omasal e Abomasal

As amostras de digesta reticular, omasal e abomasal foram coletadas entre os dias 13 e 15 do período experimental a cada 9 horas perfazendo um total de 8 amostras representativa no período de 24 horas em 3 dias de acordo com Krizsan et al (2010). Foram coletadas amostras com quantidades aproximadas de 750 ml sendo está dividida em três sub-amostras. As amostras da digesta omasal e reticular foram coletadas usando a técnica de amostragem desenvolvida por Huhtanen et al., (1997) e modificado por Ahvenjarvi et al., (2000).

As amostras foram misturadas e armazenadas a -20° C para posterior análises. Em seguida foram homogeneizadas durante 5 minutos usando um misturador com alta velocidade. Em seguida foram processadas, onde separou-se as fases e seguida foram liofilizadas, e moídas em peneiras de crivo de 1mm, e analisadas os teores de FDN.

3.4 Indicadores para Reconstituição da Digesta Verdadeira

A determinação do fluxo de matéria seca da digesta foi baseada na concentração do indicador na digesta e na dieta fornecida. Foi utilizado o uso da técnica de reconstituição da digesta pelo uso do sistema de três indicadores de acordo com France & Siddons (1986) onde considerou-se: As concentrações de Co-EDTA, Yb₂Cl₃, e FDN indigestível (FDNi) para as fases líquida, sólida dividida em pequenas partículas, e grandes partículas respectivamente. Esta técnica foi baseada na hipótese de que o fluxo da digesta é similar para qualquer um dos indicadores fornecidos, desde que a amostra coletada seja verdadeiramente representativa do fluxo da digesta que passa pelo local da amostragem. Quando as amostras da digesta não representam a digesta verdadeira torna-se necessária a realização da reconstituição da digesta. Cada amostra coletada foi dividida em três fases respectivas aos marcadores a serem utilizados: fase líquida, sólida dividida em pequenas partículas e grandes partículas. Para preparação da amostra composta as 750ml coletadas dos 8 tempos coletados foram armazenadas e congeladas. Em seguida as amostras dos 8 tempos de coleta foram utilizadas

para formação de um *pool* (amostra composta) de 6 litros. O *pool* das digestas coletadas (omasal e reticular e abomasal), foram filtradas em malha de 1 mm, e o sólido retido foi definido como a fase de partícula grande. O filtrado foi centrifugado a $1.000 \times g$ (5 min), e o sobrenadante definido com a fase líquida sendo a fase precipitada definida como fase de pequenas partículas. As concentrações de Co, Yb, e FDN indigestível (FDNi) nas fases líquida, pequenas partículas e grandes partículas respectivamente foram misturadas e recombinadas com base na matéria seca e corrigidas nas proporções da digesta omasal baseada no tipo de marcador (France e Siddons 1986). O Cobalto-EDTA foi produzido conforme procedimentos de Uden et al., (1980) e o $YbCl_3$ conforme Siddons et al., (1985), os quais foram diluídos em água para infusão, totalizando uma solução de 120 ml com 16 g de Co-EDTA (4 mg/kg/PV de Co) e 70 ml de solução de $YbCl_3$ (2.9 g de Yb/dia) (Krizsan et al., 2010). A administração, via fistula ruminal, foi realizada cinco dias antes do início da coleta da digesta omasal, reticular e abomasal até o seu término, em quatro doses iguais de 30 ml às 0h:00; 6h00; 12h00 e 18h00, conforme Dias et al., (2007). A amostra de fase líquida, partícula pequena, e partícula grande, e os marcadores foram infundidos e serão analisados por Co e Yb como descrito por Reynal e Broderick (2005).

3.5 Análises estatísticas

Todos os dados foram analisados usando o modelo procedimento PROC MIXED (Versão 9.2, SAS Institute, Cary, NC 2010), ao nível de 5% de significância, de acordo com o modelo estatístico:

$$Y_{ijklm} = \mu + S(A)_{il} + P_j + D_k + S_l + (DS)_{kl} + e_{ijklm}$$

Onde: Onde: Y_{ijklm} = variável dependente, μ = média geral, $S(A)_{il}$ = efeito randomizado (sítio no animal), P_j = efeito fixo de período ($j = 1$ a 4), D_k = efeito fixo de dieta ($k = 1$ a 4), $(DS)_{kl}$ = interação entre dieta e sítio de amostragem, e e_{ijklm} = erro.

Foram considerados os contrastes ortogonais para avaliação dos efeitos dos tratamentos sobre a composição das fases da digesta no abomaso: C1 = controle versus as fontes de gordura (óleo de soja, grão de soja e sais de cálcio de ácidos graxos), com o objetivo de comparar a dieta controle com as fontes de ácidos graxos (livre e complexada); C2 = óleo de soja versus grão de soja e sais de cálcio de ácidos graxos com o objetivo de comparar uma fonte de ácidos graxos livres do óleo de soja com duas fontes de ácidos graxos complexados

provenientes do grão de soja e de sais de cálcio de ácidos graxos e; C3 = grão de soja versus sais de cálcio de ácidos graxos com o objetivo de comparar as duas diferentes formas de ácidos graxos complexados.

O teste de tukey foi utilizado para calcular o fluxo de matéria seca estimado de acordo com o método único e triplo indicador nos diferentes compartimentos de coleta. Todos os dados obtidos foram submetidos a análise de variância adotando-se o nível de significância de 5%.

4 RESULTADO E DISCUSSÃO

Uma das principais dificuldades na determinação de fluxo de MS, está na amostragem da digesta, e esta é dividida no geral em duas fases, líquida e sólida (Faichney, 1975), por este motivo uma amostragem não representativa da digesta pode acontecer quando utiliza-se um único indicador, pelo fato da digesta se separar durante a coleta.

No presente estudo tem-se como eficiente marcador aquele que prognostica com efetividade a presença de partículas nos diferentes compartimentos estomacais do animal. Na tabela 3 estão representados os resultados dos diferentes indicadores na estimativa do fluxo de matéria seca nos diferentes compartimentos digestivos.

Quando avaliado um único indicador em todos os sítios de coleta, pode se verificar que houve diferença entre os valores observados para o fluxo de matéria seca no abomaso e retículo quando foi usando a FDNi. A fibra em detergente neutro indigestível resultou em maior fluxo de MS no abomaso (3,76 kg de MS/dia), comparado ao fluxo de MS no retículo (3,14 kg de MS/dia), demonstrando por sua vez uma maior concentração do FDNi no compartimento reticular. Durante o fluxo, ocorre seleção do conteúdo no orifício retículo-omasal, proporcionando a flutuação das partículas, tornando possível apenas a passagem da fase líquida e por consequência retém a fase de partículas que necessitam ser fermentadas no rúmen-retículo (Dardillat e Baumont, 1992).

Ahvenjarvi et al., (2003) afirmaram que a FDNi está de modo geral concentrado nas camadas concentradas de fibra. Os valores podem ser alterados pela qualidade da fibra, concentração de celulose e hemicelulose visto que quanto maior a qualidade da fração fibrosa, menor é a retenção da mesma nos compartimentos pós rúmen (Berchielli et al., 2010). Da seguinte forma observou-se maiores valores de fluxo de MS com o indicador FDNi no compartimento abomasal devido a menor passagem deste indicador pelos compartimentos digestórios. Kovács et al. (1998), diferenciaram a taxa de passagem do fluido ruminal da taxa de passagem da fibra e tiraram a conclusão que o aumento da taxa de passagem do fluido, pode influenciar a digestão e elevar a taxa de passagem, pelo fato de ocorrer mudança da consistência física da digesta ruminal.

Analisando a trajetória do cobalto nos diferentes compartimentos pode ser visualizado que os valores de fluxo de matéria seca apresentados no omaso e abomaso não diferiram. No entanto, comparando os mesmos com o valor expressando no retículo é visualizada a diferença.

Tabela 3. Médias de fluxo de MS (kg/dia), estimadas pelo método de único e triplo indicador em diferentes sítios de coleta

Item	Sítios de amostragem			CV %	Valor de P
	Fluxo kg MS/dia				
	Reticulo	Omaso	Abomaso		
FDNi	3,14 ^{bc}	3,39 ^{abC}	3,76 ^{aC}	19,67	<0,04
Cobalto	4,96 ^{bB}	7,13 ^{aA}	7,13 ^{aA}	20,24	<0,01
Ytérbio	7,60 ^{aA}	7,30 ^{aA}	5,98 ^{bB}	21,67	<0,01
FDNi + Ytérbio + Cobalto	4.09 ^{bc}	4.08 ^{bc}	4.81 ^{aC}	19,01	<0.01

Médias seguidas de letras maiúsculas e minúsculas iguais nas colunas e linhas respectivamente não diferem entre si, pelo Teste de Tukey. ($P>0,05$); CV%= coeficiente de variação; FDNi= fibra em detergente neutro indigestível; Co+FDN+Ytérbio= cobaltoEDTA mais Ytérbio associado a fibra em detergente neutro indigestível.

Esta diferença nos valores de fluxo entre os compartimentos onde o cobalto foi usado, pode ser explicada devido a sua menor concentração nos compartimentos omasal e abomasal, ocorrendo por sua vez menor trânsito deste indicador nos estômagos fato este também observado por Huhtanen et al., (1997).

Não houve diferença para o fluxo de MS kg/dia com o uso do indicador ytérbio, entre os compartimentos reticulo e o omaso (7,6kg MS/dia e 7,3kg MS/dia respectivamente). No entanto o uso de ytérbio reduziu o fluxo de MS kg/dia em relação a esses dois compartimentos. Este resultado pode ser explicado devido às características deste marcador, pois, o mesmo apresenta afinidade com a fase de pequenas partículas da digesta, obtendo por sua vez um maior trânsito ao longo dos compartimentos, proporcionando estimativa elevada referente fluxo de MS no sítio reticulo-omasal.

Avaliando os métodos de único indicador em apenas um compartimento separadamente, podemos observar que o ytérbio proporcionou maior fluxo de MS no reticulo (7,6kg MS/dia), em relação ao FDNi e ao Co-EDTA, diferindo entre as médias destes dois indicadores. O Ytérbio gerou valor superior de fluxo de matéria seca, devido maior afinidade deste marcador sobre as pequenas partículas da digesta, sendo estas de livre passagem entre os compartimentos.

Comparando o sistema de único indicador no sítio omasal pode ser visto que os dois indicadores externos cobalto e ytérbio sendo 7,13kg MS/dia e 7,30kg MS/dia, respectivamente, diferiram do indicador interno FDNi, 3,39kg MS/dia. O resultado alcançado com o indicador externo ytérbio elevou o fluxo de MS, possivelmente, devido sua afinidade com pequenas partículas, sendo estas encontradas em maior quantidade no meio abomasal.

Porém o fluxo de MS com uso do Co-EDTA no omaso mostrou-se também superior ao FDNi, resultado este não esperado visto que em teoria o esperado é que se encontrasse uma maior concentração deste indicador no compartimento omasal devido característica do trato.

No abomaso o uso de cobalto permitiu a estimação de maior fluxo de MS (7,13kg MS/dia), em relação ao marcador ytérbio e o FDNi com fluxos de 5,98kg MS/dia e 3,76kg MS/dia respectivamente (Tabela 3). Percebe-se que o CoEDTA promoveu superestimação do valor de fluxo MS, sendo este resultado não esperado no presente estudo, visto que o esperado seriam grandes concentrações deste indicador no sitio omaso-abomaso, contudo este fato o caracteriza como um indicador inadequado na estimativa do fluxo omasal de matéria seca em vacas. Ahvenjärvi et al. (2003), descreveram que o método de único indicador não é adequado na estimativa do fluxo de digesta omasal, sendo os métodos de duplo e triplo indicador os mais apropriados.

O uso de um único indicador ou de três indicadores simultaneamente pode servir de base na comparação dos fluxos estimados de matéria seca utilizando-se as respectivas associações dos mesmos com as fases da digesta. Comparando o método triplo indicador (FDNi+ytérbio+cobalto), entre os diferentes compartimentos percebe-se uma certa uniformidade nas médias, resultado este que indica uma positiva distribuição dos indicadores nos diferentes compartimentos e fases da digesta.

Está representada na tabela 4 a comparação do fluxo de matéria seca nos diferentes compartimentos e o contraste ortogonal. De acordo com o compartimento de amostragem, pode-se observar pequena variação dos valores de fluxo de matéria seca, fato este observado devido a utilização de indicadores que apresentam afinidade com as diferentes fases da digesta e as particularidades de cada sitio (tabela4) O sitio de amostragem abomasal proporcionou maior valor de fluxo de MS pelo fato deste compartimento exercer uma menor seleção de partículas em seu meio, acarretando conseqüentemente maior estimativa de fluxo MS em comparação aos demais compartimentos.

Tabela 4. Médias de fluxo de MS (kg/dia) e estimadas pelo método de triplo indicador em diferentes sítios de coleta e dietas com diferentes fontes de ácidos graxos

Item	Sítio de amostragem			Dieta				EPM	Valor de P					
	Reticulo	Omaso	Abomaso	CO	OS	GS	SCGA		C1	C2	C3	S	S × D	
Fluxo estimado, kg/dia														
MS	4.0	4.0	4.8	3.9	4.3	4.4	4.5	0.10	<0.01	0.57	0.94	<0.01	0.11	

¹Controle (C); óleo de soja (OS); grão de soja (GS); sais de cálcio de ácidos graxos (SCAG), (Megalac-E®). C1= controle versus fontes de gordura (óleo de soja, grão de soja e sais de cálcio de ácidos graxos); C2= óleo de soja versus sais de cálcio e grão de soja; C3= grão de soja versus sais de cálcio.

De acordo com Ben Salem et al., (1993) a diminuição na digestibilidade da matéria seca e da fibra pode reduzir a taxa passagem e por consequência, o consumo de matéria seca. Segundo os mesmos autores fontes de lipídios na forma de óleos diminuem a digestibilidade da fibra quando utilizados silagem de milho como volumoso. No entanto, observando o contraste entre as diferentes dietas a suplementação com fontes lipídicas não proporcionou reduções no fluxo de matéria seca, deste modo pode-se correlacionar estes resultados com a digestibilidade da fibra, visto que quanto maior a digestibilidade da fração fibrosa, maior será a passagem da digesta entre os compartimentos.

Houve aumento do fluxo de MS de acordo com as dietas devido a liberação lenta de ácidos graxos no ambiente ruminal, fato este ocorrido devido às fontes lipídicas usadas. Araújo, (2013), relata que, quando as fontes de lipídios são fornecidas na forma de sementes de oleaginosas ou sais de cálcio de ácidos graxos os efeitos na digestibilidade podem ser amenizados ou mesmo não existirem. De maneira geral, interpretando os contrastes entre as dietas, pode ser observado que existe diferença para o fluxo de MS entre a dieta controle e as dietas com fontes lipídicas ($P < 0.01$). No entanto, não houve diferença no fluxo de MS entre as fontes lipídicas.

Os mecanismos que proporcionam redução no fluxo de MS não estão devidamente esclarecidos tornando-se necessário mais estudos que avaliem diferentes fontes de lipídios nestas mesmas condições de fornecimento. No entanto a suplementação lipídica proporcionou maior transito de matéria seca em comparação a dieta controle.

5 CONCLUSÃO

O uso de um único indicador ou de três indicadores simultaneamente pode servir de base na comparação dos fluxos estimados de matéria seca utilizando-se as respectivas associações dos mesmos com as fases da digesta.

O sistema de três indicadores pode ser indicado quando as amostras coletadas não são representativas da digesta verdadeira em compartimento como omaso. O uso de fontes de ácidos graxos insaturados em dietas de vacas leiteiras não lactantes aumenta o fluxo de matéria seca no abomaso.

6 REFERÊNCIAS

- ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 7, p. 1598-1630, 2000.
- ARAÚJO, C.E. **Fontes de ácidos graxos na alimentação de vacas leiteiras** 2013. 83 p. Tese (Mestrado Zootecnia) - UNIVERSIDADE de São Paulo, Jaboticabal/SP, 2013
- AHVENJÄRVI, S.; VANHATALO, A.; SHINGFIELD, K.J.; HUNTEN, P. Determination of digesta flow entering the omasal of dairy cows using different marker systems. **British Journal of Nutrition**, v.90, p41-52, 2003.
- BASSI, M.S. **Diferentes grãos de oleaginosas na alimentação de novilhos zebuínos: consumo, digestibilidade aparente e desempenho**. 2010. 64 p. Tese (Mestrado Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010
- BARLETTA, R.V. **Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras** Pirassununga 2010. 97 p. Tese (Mestrado Zootecnia) - UNIVERSIDADE de São Paulo, Jaboticabal/SP, 2010
- BAUMAN, D. E.; LOCK, A. L. Concepts in lipid digestion and metabolism in dairy cows. In: TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 15., 2006, West Lafayette, Cornell University, **Proceedings...** 2006.14 p.
- BAUMAN, D. E.; GRINARI, J. M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: lowfat milk syndrome. **Livestock Production Science**, v. 70, p. 15–29, 2001.
- BEAUCHEMIN, K.A.; BUCHANAN-SMITH, J.G. Evaluation of markers, sampling sites and models for estimating rates of passage of silage and hay in dairy cows. **Animal. Feed Science. Technol.**, v 27, n, p. 59-75, 1989.
- BERCHIELLI, T.T.; OLIVEIRA, S.G.; CARRILHO, E.N.V.M. et al. Comparação de indicadores para estimativas de produção fecal e de fluxo de digesta em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.3, p.987-996, 2005.
- BERCHIELLI, T. T.; RODRIGUEZ, N. M.; OLIVEIRA, H. P. Efeito de diferentes relações volumoso : concentrado no consumo, digestibilidade aparente e partição da digestão de dieta de bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 48, n. 5, p. 607-617, 1996.
- BERCHIELLI, T.T.; VEGA, A.G.; REIS, A.R. Técnicas de avaliação de consumo em Ruminantes: Estado de Arte. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL AVANCOS EM TECNICAS DE PESQUISAS EM NUTRICAÇÃO DE RUMINANTES, 1., 2007. Pirassununga-SP **Anais...** Pirassununga: Universidade de São Paulo, p.305-340, 2007
- BERCHIELLI, T. T.; ANDRADE, P. D.; FURLAN, CLAUDIA. LOPES. Avaliação de indicadores internos em ensaios de digestibilidade. **R. Bras. Zootec.**, Viçosa , v. 29, n. 3, June 2000

BERCHIELLI, T.T. **Uso de indicadores em estudos de ingestão, digestibilidade, composição da dieta, trânsito e fluxo digestivo.** 2003. 264f. Tese de Livre Docência – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, V. A.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes.** Jaboticabal: Funesp, 2006. 583 p.

BUTLER, W. R. Efeito do balanço energético negativo na fertilidade de vacas leiteiras. In: CURSO DE NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 7., 2004, Uberlândia. **Anais...** 2004. p. 101- 111

CEZIMBRA, I.M. **Indicadores na estimativa do fluxo de nutrientes no duodeno, produção fecal, consumo de concentrado e volumoso por bovinos** 2010. 67 p. Tese (Mestrado Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal/SP, 2010

CHOUINARD, P. Y.; GIRARD, V.; BRISSON, G. J. Fatty acid profile and physical properties of milk fat from cows fed calcium salts of fatty acids with varying unsaturation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 2, p. 471- 481, Feb. 1998.

COMBS, D.K.; SHAVER, R.D., SATTER, L.D. Retention of rare earths by hay particles following incubation in fresh or autoclaved rumen fluid. **Journal Dairy Science**. v.75, n.6, p.132-139, 1992

COPPOCK, C. E.; WILKS, D. L. Milk yield, and composition supplemental fat in highenergy rations for lactating cows: effects on intake, digestion. **Journal Animal Science**, v. 69, p. 3826- 3837, 1991.

CORRÊA, A. M. V. **Utilização da soja em diferentes formas na alimentação de vacas leiteiras.** 2007, 128 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007

CROOKER, B.A.; CLARK, J.H.; SHANKS, R.D. Rare earth elements as markers for rate of passage measurements of individual feedstuffs through the digestive tract of ruminants. **Journal of Nutrition**, v.112, n.7, p.1353-1361, 1982.

COSTA, M.G. **Rações com diferentes fontes de gordura Para vacas em lactação.** Pirassununga 2008. 140 p. Tese (Doutorado Zootecnia) – Universidade federal de viçosa Minas Gerais/SP, 2008

CZERKAWSKI, J. W. Microbial fermentation in the rumen. **Proceedings Nutrition Society**, v. 43, p. 101-180, 1984.

D'ANGELO L.S **Fontes de gordura na alimentação de vacas leiteiras no período de transição e início de lactação.** 2009. 95 p. Tese (Mestrado Zootecnia) - UNIVERSIDADE de São paulo, Jaboticabal/SP, 2009

DARDILLAT, C.; BAUMONT, R. Physical characteristics of reticular content in the bovine and consequences on reticular outflow. **Reproduction of Nutrition Development**, v.32, p21-32, 1992

DAVIS, C.L.; BROWN, R.E. Low-fat Milk Syndrome. In: A.T. PHILLIPSON (Eds.) *Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant*, Oriel Press Limited, Newcastle upon Tyne, UK, p.545- 565. 1970.

DERESZ, F., FERNANDES, A.M. E MATOS, L.L. 1996. Utilização da soja-grão crua na alimentação de vacas leiteiras de alta produção. **Rev Bras Zootecnia**, 25: 113-124.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C. et al. **Métodos para análise de alimentos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012. 214p.

DIJKSTRA, J. ET AL. Predicting the yield of nutrients from microbial metabolism in the rumen. In MANNETJE, L'T. et al. (Eds). In: VI International Symposium on the Nutrition of Herbivores, 2003. p. 101-127.

DOREAU, M., AND Y. CHILLIARD. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *British Journal Nutrition*. **78:S15–S35, 1997**.

EIFERT, E. C.; LANA, R. P.; LANNA, D. P. D.; TEIXEIRA, M. A.; ARCURI, P. B.; LEÃO, M. I.; OLIVEIRA, M. V. M.; VALADARES FILHO, S. C. Perfil de ácidos graxos e conteúdo de ácido linoléico conjugado no leite de vacas alimentadas com a combinação de óleo de soja e fontes de carboidratos na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1829-1837, 2006

Embrapa 2010. Metodologias para avaliação de alimentos para ruminantes domésticos. ISSN 0103-9865 Maio, 2010

FAICHNEY, G.J. The use of markers to partition digestion within the gastrointestinal tract of ruminants. In digestion and metabolism in the ruminants. **Proceeding** of the IVth International Symposium on Ruminant Physiology, p.277-291 [IW McDonald and ACI Warner, editors]. Sydney, Australia: The University of New England Publishing Unit, 1975.

FAY, J. P.; JAKOBER, K. D.; CHENG, K. J.; COSTERTON, J. W. Esterase activity of pure cultures of rumen bacteria as expressed by the hydrolysis of p-nitrophenyl palmitate, **Canadian Journal Microbial**, v.17 , n. 12 , p. 365-385, 1990.

FERREIRA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; COSTA E SILVA, L.F. et al. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: estimativa de consumos de concentrado e de silagem de milho por vacas em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.8, p.1574-1580, 2009b

FERREIRA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; MARCONDES, M.I. et al. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.8, p.1568-1573, 2009^a

FIGUEIREDO, M.R.P. **Indicadores externos de digestibilidade aparente em Ovinos** 2011. 86p. Tese(Mestrado Zootecnia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte/MG, 2011

FREITAS, Djalma de et al . Produção Fecal e Fluxo Duodenal de Matéria Seca e Matéria Orgânica Estimados por Meio de Indicadores. **R. Bras. Zootec.**, Viçosa , v. 31, n. 3, supl. June 2002

GONSALVES, L.C.; BORGES, I.; FERREIRA, O. D. S. **Alimentação de gado de leite**. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2009. 418P.

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

GRUMMER, R. R.; HATFIELD, M. L.; DENTINE, M. R. Acceptability of fat supplements in four dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 3, p. 852-857, 1990

HAFEZ, S.; JUNGE, W.; KALM, E. Schätzung der verdaulichkeit mit einer indikatormethode bei milchku"hen im vergleich zum hohenheimer-futterwert-test. **Archiv Tierernahr**, v.38, p.929-945, 1988.

HALL, M, B, Making nutritional sense of nonstructural carbohydrate, In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 9., 1998, Gainesville, Fl, **Proceedings...** Gainesville: Florida University Press, 1998, p.108-121

HARFOOT, C.G.; HAZLEWOOD G.P. Lipid metabolism in the rumen. In: The Rumen Microbial Ecosystem. Hobson e Stewart, editores. Glasgow: **Blackie Academic & Professional**. p.382-426. 1997

HAWKE, J. C.; SILCOCK, W. R. The in Vitro Rates of Lipolysis and Biohydrogenation in Rumen Contents. **Biochimica Biophysica Acta**, v. 112, p. 201-218, 1970.

HAVERTINE, K.; ALLEN, M. S. Fat Supplements Affect Fractional Rates of Ruminal Fatty Acid Biohydrogenation and Passage in Dairy Cows, **Journal Nutrition**. V. 136, p. 677-685, 2006

HEALY, W.B. Ingestion of Soil by dairy cows. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v.11, p.487-499, 1968.

HUANG, Y.; SCHOONMAKER, J. P.; BRADFORD, B. J.; BEITZ, D. C. Response of MilkFatty Acid Composition to Dietary Supplementation of Soy Oil, Conjugated Linoleic Acid, or Both. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 1, p. 260-270, 2008.

HUHTANEM, P; BROTZ, P.G; SATTER, L.D. Omasal sampling technique for assessing fermentative digestion in the forestomach of dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.75, p1380 – 1392,1997

ÍTAVO, Luís Carlos Vinhas et al . Comparação de Indicadores e Metodologia de Coleta para Estimativas de Produção Fecal e Fluxo de Digesta em Bovinos. **R. Bras. Zootec.**, Viçosa , v. 31, n. 4, July 2002 .

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

JENKINS, T. C. Butylsoyamide protects soybean oil from ruminal biohydrogenation: effects of butylsoyamide on plasma fatty acids and nutrient digestion in sheep. **Journal Animal Science**, v. 73, p. 818-823, 1995

JENKINS, T. C.; PALMQUIST, D. L. Effect of fatty acids or calcium soaps on rumen and total nutrient digestibility of dairy rations. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, n. 5, p. 978-986, May 1984.

JUNIOR, G.S.D. **Desempenho de vacas leiteiras Suplementadas com sal de cálcio rico em ácido linoleico ou grão de Soja** tostado 2012. 75 p. Tese (Mestrado Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011

JUNIOR, J.E.F. **Biohidrogenação e fluxo intestinal de ácidos Graxos em vacas leiteiras** 2012. 136 p. Tese (Doutorado Zootecnia) - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, Jaboticabal/SP, 2012

KEMP, P.; LANOER . D. J. Hydrogenation in vitro of a-linolenic acid to stearic acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria. **Journal of General Microbiol**, v. 130, p. 527-533, 1984.

KENNEDY, G.C. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. **Proceedings of the Royal Society**, p.578-292, 1953.

KOVÁCS, P.L.; SÜDEKUN, K.H.; STANGASSINGER, M. Effects of intake of mixed diets and time post feeding on amount and fiber composition of ruminal and fecal particles and on digesta passage from the reticulo-rumen of steers. **J. Anim. Feed Sci. Tech.**, v.71, n.3-4, p.325-340, 1998

KEPLER, C. R.; TUCKE, W. P.; TOVE, S. B. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. IV. Substrate specificity and inhibition of linoleic delta-12-*cis*, delta-11-*trans* isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 245, p. 3612–3820, 1970.

KLUSMEYER, T. H.; CLARK, J. H. Effects of dietary fat and protein on fatty acid flow to the duodenum and in milk produced by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 9, p. 3055-3067, Sept. 1991.

KOTB, A.R.; LUCKEY, T.D. Markers in nutrition. **Nutrition Abstracts & Reviews**, v.42, n.3, p.813-845, 1972.

KOZLOSKI, G. B. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2002. 139p

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 3. ed. Santa Maria: Ed. Da UFMS, 2011.

LIN, H.; BOYSLON, T.D.; CHANG, M.J. LUEDECKE L. O.; SCHULTZ T. D. Survey of the conjugated linoleic acid contents of dairy products. **Journal of Dairy Science**, v. 78, n. 11, p. 2358-2365, 1995

MAJAK, W.; HALL, J. W.; RODE, L. M.; KALNIN, C. N. Rumen clearance rates in relationship to the occurrence of alfafa bloat in cattle: 1. passage of water-soluble markers. **Journal of Dairy Science**, v. 69, p. 1560- 1567, 1986.

MATURANA FILHO, M. **Desempenho produtivo e reprodutivo e parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes de gordura no período de transição e início de lactação**. 2009. 102 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 2009

MEDEIROS S.R. **Informe Técnico – Macal Nutrição Animal**. Uso de lipídeos em dietas de ruminantes. Campo Grande-MS 2009

MERCHEN, N.R. Digestion, absorption and excretion in ruminants. In: CHURCH, D.C.(ed.). The ruminant animal digestive physiology and metabolism. **New Jersey: Prentice Hall**, p.172-201, 1988.

MOORE, J.E.; SOLLENBERGER, L.E. Techniques to predict pasture intake. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ANIMAL PRODUCTION UNDER GRAZING, 1997, Viçosa. **Anais...Viçosa:UFV**, 1997. p.81-96.

NAGARAJA, T. G.; NEWBOLD, C. J.; VAN NEVEL, C. J.; DEMEYER, D. I. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P. N.; STEWART, C. S. (Ed.). The rumen microbial ecosystem. 2. ed. Great Britain: **Blackie Academic & Professional**, 1997. p.524-632

NÖRNBERG, J. L.; LÓPEZ, J.; STUMPF JÚNIOR, W.; COSTA, B. P.; SCHAFHAÜSER JÚNIOR, J. Desempenho de vacas Jersey suplementadas com diferentes fontes lipídicas na fase inicial da lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1431-1438, 2006.

ONETTI, S. G.; SHAVER, R. D.; MCGUIRE, M. A.; GRUMMER, R. R. Effect of type and level of dietary fat on rumen fermentation and performance of dairy cows fed corn silagebased diets. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 2751-2759 2001.

ONETTI S, G.; GRUMMER, R. R. Response of lactating cows to three supplemental fat sources as affected by forage in the diet and stage of lactation: A meta-analysis of literature. **Animal Feed Science and Technology**, v. 115, n. 1/2, p. 65-82, 2004.

OWENS, F.N.; HANSON, C.F. External and Internal Markers for Appraising Site and Extent of Digestion in Ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.9, p.2605-2617, 1992.

PALMQUIST, D.L.; JENKIS, T.C. Fat in lactation rations: review. **Journal of Dairy Science**, v. 63, p. 1-14, 1980.

- PALMQUIST, D. L. Influence of source and amount of dietary fat on digestibility in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 1354-1360, 1991
- PALMQUIST, D. L. The feeding value of fats. In: ORSKOV, E. R. (Ed.). **World animal science**. B. Disciplinary approach. 4. Feed Science. Amsterdam: Elsevier, 1988. p. 293-311.
- PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. Metabolismo de Lipídeos. In: BERCHIELI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. (Eds.) **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 287-310.
- REDDY, P.V.; MORRIL, J.L.; NAGARAJA, T.G. Release offatty acids from raw or processed soybeans and subsequent effects on fiber digestibilities. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.341-346, 1994.
- RIVERA, A.R. **Estudo Da Fermentação Ruminal Por Bovinos Consumindo Feno De Tifton 85 E Concentrado Com Aditivos 2006**. 57 p. Tese (Mestrado Zootecnia) - UNIVERSIDADE de São paulo, Jaboticabal/SP, 2006
- RODRIGUÉZ, N.M.; SALIBA, E.O.S.; JÚNIOR, R.G. Uso de indicadores para estimativa de consumo a pasto e digestibilidade. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43, 2006, João Pessoa – PB. **Anais...** Paraíba: SBZ, 2006.
- SALIBA, E.O.S. Uso de indicadores: passado, presente e futuro. In: Teleconferencia Sobre Indicadores em Nutricao Animal, 1., 2005, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Escola de Veterinaria da UFMG, 2005. p.04-22.
- SANTOS, F.A.P.; SANTOS, J.E.P.; THEURER, C.B. Effects of rumen-undegradable protein on dairy cow performance: a 12-year literature review. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.3182-3213, 1998
- SANTOS, A. D. F. C.; TORRES, A. A.; RENNÓ, F. P.; DRUMOND, M. R. S.; FREITAS JÚNIOR J. E. Utilização de óleo de soja em rações para vacas leiteiras no período de transição: consumo, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 7, p. 1363-1371, 2009.
- SCHAUFF, D. J.; CLARK, J. H. Effects of Feeding Diets Containing Calcium Salts of Long-Chain Fatty Acids to lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 11, p. 2990-3002, 1992.
- SILVA, F.F. et al . Produção fecal e digestibilidade estimada por indicadores internos comparados a coleta total. **Arch. zootec.**, Córdoba, v. 58, n. 224, dic. 2009
- SILVEIRA, M.F. **Suplementação com sais de cálcio de ácidos graxos para vacas de corte mantidas em pastagem natural durante o período pré e/ou pós-parto**. 2010. 131p. Tese (Doutorado Zootecnia) - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA, Santa Maria/RS, 2010

- SIDDONS, R.C.; PARADINE, J.; BEEVER, D.E.; CORNELL, P.R. Ytterbium acetate as a particulate-phase digesta – flow marker. **British Journal of Nutrition**, v.54, n.2, p.509-519, 1985
- SOEST, P. J. van. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd. ed. Ithaca: **Cornell University**, 1994. 476 p
- SOUZA, M.C. **Meta-análise do consumo de matéria seca de vacas leiteiras em condições tropicais** 2013. 67 p. Tese (Mestrado Zootecnia) - Universidade federal de mato grosso, Sinop/MT, 2013
- STAPLES, C. R.; BURKE, J. M.; THATCHER, W. W. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 856-871, 1998.
- STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W.; MATTOS, R. Fat supplementation strategies for lactating dairy cow diets. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE BOVINOCULTURA DE LEITE, 2., 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2001. p. 161-178.
- TITGEMEYER, E.C.; ARMENDARIZ, C.K.; BINDEL, D.J. GREENWOOD R.H.; LOES C.A.; Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker for cattle. **Journal of Animal Science**, v.79, n.4, p.1059-1063, 2001.
- TEETER, R.G.; OWENS. F.N.; MADER, T.L. Ytterbium chloride as a marker for particulate matter in the rumen. **Journal of Animal Science**, v.58, p.465-473, 1984.
- UEDA, K.; FERLAY, A.; CHABROT, J.; LOOR, J. J.; CHILLIARD, Y.; DOREAU, M. Effect of linseed oil supplementation on ruminal digestion in dairy cows fed diets with different forage:concentrate ratios. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 3999-4007, 2003.
- VARGAS, L. H. et al., Adição de Lipídios na Ração de Vacas Leiteiras: Parâmetros Fermentativos Ruminais, Produção e Composição do Leite. **Rev. Bras. Zootec.**, Jan 2002, vol.31, no.1, p.522-529. ISSN 1516-3598
- VALADARES FILHO, S. C.; MAGALHÃES, K. A.; ROCHA JÚNIOR, V. R. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. Viçosa, MG: UFV, 2006. 329p
- VALADARES FILHO, S.C.; ROTTA, P.P.; COSTA E SILVA, L.F.. Técnicas de coleta duodenal, abomasal, omasal e reticular na avaliação do fluxo ruminal. In: RENNÓ, F.P.; PRADA E SILVA, L.F. **Simpósio Internacional Avanços Em Técnicas De Pesquisa Em Nutrição De Ruminantes**,3. Pirassununga, SP. p.14-45, 2011.
- VALENTINI, P.V. **Indicadores de produção fecal de novilhas em diferentes planos de alimentação** 2012. 59 p. Tese (Mestrado Zootecnia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012
- WANG, Y. M.; WANG, J.H.; WANG, C.; CHEN, B.; LIU, J. X.; CAO, H.; GUO, F. .; VAZQUEZ-AÑÓN, M. Effect of different rumen-inert fatty acids supplemented with a dietary antioxidant on performance and antioxidative status of early-lactation cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 8, p. 3738-3745, 2010.

WATANABE, P EZEQUIEL, J.M.; GALATI, R.L. et al. Indicadores internos indigestíveis para a estimativa das digestibilidades de dietas à base de coprodutos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.11, n.3, p.849-857, 2010.

ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N.; DIAN, P.H.M. Recuperação fecal de indicadores internos avaliados em ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1865-1874, 2002.