

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÓLEO DE LINHAÇA SOBRE A
PRODUÇÃO, QUALIDADE DO LEITE E ASPECTOS FISIOLÓGICOS DE VACAS
EM PASTEJO NA PRIMAVERA E VERÃO**

GADRIÉLI CRISTINA GHENO

LAGES, SC

2023

GADRIÉLI CRISTINA GHENO

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÓLEO DE LINHAÇA SOBRE A
PRODUÇÃO, QUALIDADE DO LEITE E ASPECTOS FISIOLÓGICOS DE VACAS
EM PASTEJO NA PRIMAVERA E VERÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, Área de Concentração: Produção Animal.

Orientador: André Thaler Neto

Co-orientador: João Pedro Velho

LAGES, SC

2023

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração
automática da Biblioteca Setorial do CAV/UDESC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Gheno, Gadriéli Cristina

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÓLEO DE LINHAÇA
SOBRE A PRODUÇÃO, QUALIDADE DO LEITE E ASPECTOS
FISIOLÓGICOS DE VACAS EM PASTEJO NA PRIMAVERA E
VERÃO / Gadriéli Cristina Gheno. -- 2023.

58 p.

Orientador: André Thaler Neto

Coorientador: João Pedro Velho

Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-
Graduação em Ciência Animal, Lages, 2023.

1. Índice de temperatura e umidade.
 2. Umidade relativa do ar.
 3. Produção de leite.
 4. *Lolium multiflorum* .
 5. *Pennisetum americanum*.
- I. Thaler Neto, André . II. Velho, João Pedro. III. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal.
- IV. Título.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e pela certeza de sua presença me protegendo, pois até aqui o Senhor me sustentou.

À minha família, meus pais Anildo e Neide e irmão Gadiel, que mesmo distante e em momentos de dificuldade me apoiaram e incentivaram.

Ao meu orientador, Professor André Thaler Neto pela oportunidade de trabalhar ao seu lado, pela orientação e contribuição para a realização deste trabalho.

Ao meu coorientador, Professor João Pedro Velho e sua esposa Professora Ione Maria Pereira Haygert Velho, que acompanham minha constante evolução e que deram o auxílio necessário para a elaboração deste projeto.

Aos amigos, agradeço pelos momentos de descontração, pelas palavras de apoio e auxílio para meu crescimento pessoal e profissional.

Aos alunos de iniciação científica e aos colegas de pós-graduação que participaram deste trabalho, em especial ao meu colega Roberto Kappes pela colaboração e disposição no processo de obtenção de dados.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC, Centro de Ciências Agroveterinárias - CAV por proporcionar ensino gratuito e de qualidade, a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina – FAPESC e ao Programa de Bolsas de Monitoria de Pós-Graduação - PROMOP pela bolsa concedida.

A todos, agradeço.

*“Entrega teu caminho ao Senhor;
confia nele, e ele tudo fará”.*
(Salmos 37:5)

RESUMO

GHENNO, Gadriéli Cristina. Efeitos da suplementação com óleo de linhaça sobre a produção, qualidade do leite e aspectos fisiológicos de vacas em pastejo na primavera e verão. 2023. P. 58. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal – Área: Produção Animal). Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Lages, 2023.

Objetivou-se avaliar a resposta à utilização do óleo de linhaça no suplemento concentrado sobre a produção, qualidade do leite e aspectos fisiológicos de vacas em pastejo na primavera e verão. O projeto foi conduzido em dois experimentos, sendo um na primavera e outro no verão. Em cada experimento foram utilizadas doze vacas da raça Holandês e mestiças Holandês x Jersey, divididas em dois tratamentos, homogêneas em cada tratamento quanto ao número de dias em lactação (DEL), peso vivo (PV), produção de leite (Kg/dia), ordem de parto (OP) e grupo genético (GG). O experimento foi conduzido em um delineamento em quadrado latino 2 x 2, sendo 2 tratamentos e 2 períodos. Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando o procedimento MIXED do pacote estatístico SAS®, sendo realizadas análises em separado de cada experimento, assim como uma análise de grupo de experimentos, visando avaliar diferenças no efeito de tratamento na primavera e verão. A produção de leite aumentou com a suplementação com óleo de linhaça somente no experimento de verão, com um incremento de aproximadamente 1 kg de leite/vaca/dia. No experimento de verão a suplementação reduziu o teor de gordura do leite de forma bastante substancial (3,80 vs 3,58%), de modo que a diferença foi significativa quando se consideram ambos experimentos de forma conjunta (3,93 vs 3,78% - $P<0,01$). A relação gordura:proteína se manteve em valores próximos a 1,2 e os teores de proteína e caseína diminuíram com a suplementação com óleo de linhaça ($P\leq0,05$). A suplementação com óleo de linhaça não afetou o teor e produção de lactose e o índice crioscópico. A acidez titulável apresentou diferença significativa ($P\leq0,05$), sendo maior quando houve a suplementação com óleo de linhaça (17,36 °D vs. 16,63 °D) no verão. A resistência ao teste do álcool aumentou com a suplementação com óleo de linhaça ($P<0,0001$). O teor de cloretos reduziu com a suplementação com óleo de linhaça, com valores dentro da faixa normal para animais sadios (0,08 a 0,1%). Os teores de concentração sérica de glicose, de beta-hidroxibutirato e o escore de condição corporal, bem como a movimentação das vacas não foram afetados pelos tratamentos, enquanto a ruminação aumentou com a suplementação com óleo de linhaça no verão. A suplementação com óleo de linhaça foi eficiente na redução da frequência cardíaca e da temperatura corporal no período da tarde, quando os animais estão mais expostos ao estresse pelo calor. A suplementação com óleo de linhaça aumentou a concentração de ácidos de cadeia longa (C18) em ambos os experimentos, com exceção do CLA C18:2 trans-10 cis-12, que aumentou somente no verão. Conclui-se que a suplementação com óleo de linhaça aumenta a produção de leite em condições de verão, melhora a adaptação das vacas ao calor e melhora as propriedades nutricionais do leite através da sua capacidade em modular o perfil de ácidos graxos do leite.

Palavras-chave: Índice de temperatura e umidade, umidade relativa do ar, produção de leite, *Lolium multiflorum* e *Pennisetum americanum*.

ABSTRACT

GHENNO, Gadriéli Cristina. Effects of linseed oil supplementation on milk yield, milk quality and physiological parameters of grazing cows in spring and summer. 2023. P. 58. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal – Área: Produção Animal). Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Lages, 2023.

The objective was to evaluate the response to the use of linseed oil in the concentrated supplement on milk yield, milk quality, and physiological parameters of grazing cows in spring and summer. The project was carried out in two experiments, one in spring and the other in summer. Twelve Holstein and crossbred Holstein x Jersey cows were used in each experiment, divided into two treatments, which were regarding the number of days in milk (DIM), body weight (BW), milk yield (Kg/day), parity order (PO) and genetic group (GG). Data were submitted to ANOVA, using the MIXED procedure of the SAS® statistical package, with separate analyzes of each experiment being carried out, as well as a group analysis of experiments, aiming to evaluate differences in the effect of treatment in spring and summer. Milk yield increased with linseed oil supplementation only in the summer experiment, with an increase of approximately 1 kg of milk/cow/day. In the summer experiment, supplementation reduced milk fat content quite substantially (3.80 vs 3.58%), so there was a difference significant when considering both experiments together (3.93 vs 3.78% - $P<0.01$). The fat:protein ratio remained at values close to 1.2 and the protein and casein contents decreased with linseed oil supplementation ($P\leq0.05$). Supplementation with linseed oil did not affect the content and production of lactose and the cryoscopic index. The titratable acidity showed a significant difference ($P\leq0.05$), being higher when there was linseed oil supplementation (17.36 °D vs. 16.63 °D) in the summer. Resistance to the alcohol test increased with linseed oil supplementation ($P<0.0001$). The chloride content reduced with linseed oil supplementation, with values within the normal range for healthy animals (0,08 to 0,1%). The levels of serum glucose concentration, betabeta-hydroxybutyrate and the body condition score, as well as the cows activity index, were not affected by the treatments, while rumination increased with the supplementation with linseed oil in the summer. Linseed oil supplementation was effective in reducing heart rate and body temperature in the afternoon, when animals are more exposed to heat stress. Supplementation with linseed oil increased the concentration of long-chain acids (C18) in both experiments except for CLA C18:2 trans-10 cis-12, which increased only in the summer. We concluded that linseed oil supplementation increases milk production in summer, improves cows adaptation to heat and improves the nutritional properties of milk through its ability to modulate the fatty acid profile of milk.

Keywords: Temperature and humidity index, relative humidity, milk yield, *Lolium multiflorum*, and *Pennisetum americanum*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Fotos dos experimentos. A: área experimental com cultivo de azevém. B: área experimental com cultivo de milheto. C e D: detalhes do fornecimento de concentrado, no cocho, de acordo com cada tratamento..... 31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Médias dos quadrados mínimos, erro-padrão da média (EPM) e valores de P para produção, composição e análises físico-químicas do leite na estação de primavera.....	42
Tabela 2 - Médias dos quadrados mínimos, erro-padrão da média (EPM) e valores de P para as variáveis fisiológicas de comportamento e metabolismo das vacas na estação primavera..	43
Tabela 3 - Médias dos quadrados mínimos, erro-padrão da média (EPM) e valores de P para produção, composição e análises físico-químicas do leite na estação de verão	44
Tabela 4- Médias dos quadrados mínimos, erro-padrão da média (EPM) e valores de P para as variáveis fisiológicas de comportamento e metabolismo das vacas na estação de verão.....	45
Tabela 5- Análise conjunta entre experimentos para produção, composição e análises fisico-químicas de leite	46
Tabela 6- Análise conjunta entre experimentos para as variáveis fisiológicas de comportamento e metabolismo das vacas	47
Tabela 7- Médias dos quadrados mínimos, erro-padrão da média (EPM) e valores de P para o perfil de ácidos graxos do leite no experimento de primavera	48
Tabela 8 – Médias dos quadrados mínimos, erro-padrão da média (EPM) e valores de P para o perfil de ácidos graxos do leite no experimento de verão	49
Tabela 9- Média dos valores mínimo, médio e máximo para temperatura do ar (°C), umidade relativa do ar (%) e índice de temperatura e umidade durante os dias de avaliação.	50
Tabela 10 – Perfil de ácidos graxos dos alimentos.....	51

LISTA DE ABREVIATURAS

°C: graus Celsius
°D: graus Dornic
µL: microlitro
CBT: contagem bacteriana total
CCS: contagem de células somáticas
CH₄: fórmula molecular do metano
CLA: ácido linoleico conjugado
BHBA: beta-hidroxibutirato
DEL: dias em lactação
dL: decilitro
ECC: escore de condição corporal
ECM: produção de leite corrigida para energia
EPM: erro padrão da média
ESD: extrato seco desengordurado
EST: extrato seco total
FC: frequência cardíaca
FR: frequência respiratória
g: gramas
GG: grupo genético
H⁺: íon de hidrogênio
ITU: índice de temperatura e umidade
L: litros
M: mol
mg: miligramas
min: minutos
mL: mililitro
Mmol: milimol
MS: matéria seca
MUFA: ácidos graxos monoinsaturados
OP: ordem de parto
pH: potencial hidrogeniônico
PUFA: ácidos graxos poliinsaturados
PV: peso vivo
T: temperatura do ar
TL6: tratamento com linhaça
TT: tratamento testemunha
TR: temperatura retal
TV: temperatura vaginal
UR: umidade relativa do ar

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	22
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
1.1 PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE.....	23
1.2 ESTRESSE PELO CALOR EM VACAS LEITEIRAS.....	25
1.3 SUPLEMENTAÇÃO LIPÍDICA	27
1.3.1 Óleo de linhaça.....	28
2. HIPÓTESE.....	29
3. OBJETIVOS	29
3.1 OBJETIVO GERAL.....	29
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
4.1 ANIMAIS, TRATAMENTOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	30
4.2 DADOS CLIMÁTICOS	31
4.3 MONITORAMENTO ELETRÔNICO DA RUMINAÇÃO E ATIVIDADE	32
4.4 ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL	32
4.5 FREQUÊNCIA CARDÍACA, FREQUÊNCIA RESPIRATÓRIA, TEMPERATURA CORPORAL INTERNA	32
4.6 CONTROLE DE PRODUÇÃO, COLETAS E ANÁLISES DE AMOSTRAS DE LEITE.....	33
4.7 DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE E DOS ALIMENTOS	34
4.8 COLETA E ANÁLISE DE AMOSTRAS DE SANGUE	34
4.9 ANÁLISE DE DADOS	35
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1 CONDIÇÕES AMBIENTAIS.....	36
5.2 PRODUÇÃO E QUALIDADE DO LEITE	36
5.3 ASPECTOS FISIOLÓGICOS	39
5.4 CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS.....	40
6. CONCLUSÃO.....	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

INTRODUÇÃO

O Brasil é um país de clima tropical e subtropical, apresentando como característica as elevadas temperaturas nos períodos mais quentes do ano, o que se torna um desafio para a atividade leiteira (Pinheiro, 2012), colocando em risco o bem-estar animal (Baumgard et al., 2015), e influenciando negativamente a produção e qualidade do leite (RHOADS et al., 2009).

Em sistemas de pastejo estes desafios podem ser agravados, pois os animais estão mais expostos às condições climáticas (Karvatté et al., 2016) predispondo-os a condições de estresse pelo calor. As variáveis climáticas (temperatura do ar, umidade relativa do ar, ventilação e radiação solar) são os principais fatores que influenciam as condições de conforto térmico (SANTOS; FONSECA, 2019).

O estresse pelo calor é definido como uma condição fisiológica, quando os fatores externos causam aumento na temperatura corporal, excedendo a zona de termoneutralidade (Bernabucci et al., 2010). Na tentativa de minimizar os efeitos, a principal resposta fisiológica dos animais em condições de estresse pelo calor é a redução no consumo de alimento com o objetivo de reduzir o calor produzido durante a digestão e o metabolismo corporal (Farooq et al., 2010). Como consequência da redução de consumo, há menor disponibilidade de nutrientes essenciais e energia metabolizável (Santos; Fonseca, 2019), limitando o desempenho animal em suas atividades físicas, metabólicas e desempenho produtivo (Arrigoni et al., 2015), com consequente redução na produção de leite, alterações composticionais e físicas, impactando economicamente o setor lácteo (BERNABUCCI et al., 2010; WHEELOCK et al., 2010).

De acordo com Gault et al., (2013), podem ser adotadas estratégias nutricionais que visam diminuir os impactos das mudanças climáticas na nutrição e no desempenho animal. A suplementação com gordura para vacas leiteiras tem sido utilizada com o intuito de aumentar a densidade energética das rações e o consumo de energia em épocas de estresse calórico, proporcionando benefícios nutricionais e melhor eficiência energética (Bauman et al., 2008; Becker; Collier; Stone, 2020; Smith, 1990). A linhaça se destaca como uma das oleaginosas de maior interesse para a nutrição de vacas, sendo o óleo de linhaça o suplemento mais valorizado para as rações pela sua capacidade de transferir compostos bioativos, tais como ômega-3 para o leite (Baptista et al., 2021; Marchi e Lima, 2021; Petit, 2010; Singh et al., 2011). Dessa forma, o objetivo foi avaliar a resposta à utilização do óleo de linhaça no suplemento concentrado sobre a produção, qualidade do leite e aspectos fisiológicos de vacas em pastejo na primavera e verão.

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE

Segundo dados da FAO – Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, a produção mundial de leite em 2022 está prevista em cerca de 930 milhões de toneladas, com aumento de 0,6% em relação ao ano de 2021. Na América do Sul, a produção estimada é de 65,6 milhões de toneladas em 2022, uma queda de 1,7% em relação ao ano anterior. O Brasil é o terceiro colocado no ranking mundial de produção de leite, com predominância de produção em pequenas e médias propriedades, tornando o setor de grande importância econômica e social para o país.

Mesmo com o declínio na produção de leite, impulsionado pelas reduções na margem de lucro dos produtores, causadas principalmente pelo aumento dos custos de insumos, maquinário, combustível e mão de obra, as propriedades produtoras de leite destacam-se na adoção de melhorias nas práticas de manejo, bem-estar animal (Biavatti; Berber; Berber, 2014; EMBRAPA, 2019) e de tecnologias. Além dos fatores listados anteriormente, fatores climáticos (Bernabucci et al., 2010) afetam a saúde e o desempenho dos animais de maneira direta e indireta (NARDONE et al., 2010).

O leite de vaca e seus derivados são importantes fontes de alimento e contribuem, significativamente, para o consumo de nutrientes essenciais à população humana (Drewnowski, 2011; Olaniyan; Kaya; Secka, 2023), tendo em sua composição água (86 - 88 %), sólidos totais (12 - 14 %), gordura (3,5 - 4,5%), proteína (3,2 - 3,5 %), lactose (4,6 - 5,2), minerais e vitaminas (Oliveira; Caruso, 1989; Fox, 2009; Santos; Fonseca, 2019) os quais podem apresentar variações de acordo com o período de lactação, alimentação, saúde animal e fatores genéticos (HECK et al., 2009).

A síntese de proteína do leite ocorre no retículo endoplasmático rugoso a partir de aminoácidos do sangue, e podem ser classificadas em dois grandes grupos: as caseínas e as proteínas do soro (Santos; Fonseca, 2019; Tacoma et al., 2016). Gao et al., (2017) avaliaram o efeito do estresse pelo calor no metabolismo de proteínas em vacas holandesas em lactação e, quando comparadas com o grupo controle, animais em estresse (32°C a 36°C e 40% de umidade relativa do ar) apresentaram reduções na produção de leite (17%), proteína do leite (4,1%) produção de proteína do leite (19%), leite com 4% de gordura corrigida (23%) e produção de gordura (19%). Também houve redução dos aminoácidos plasmáticos (17,1%), sugerindo que o aumento da utilização sistêmica de aminoácidos limita a disponibilidade dos mesmos para a síntese de proteínas na glândula mamária. Para Tao et al., (2018), a redução na

produção de leite para animais em condições de estresse pelo calor é de 25 a 40%, sendo parcialmente explicada pela redução no consumo de alimento. Os mesmos autores destacam que estudos *in vitro* apontam maiores taxas de morte celular das células epiteliais mamárias quando os animais estão expostos à elevadas temperaturas ambientais, ocasionando redução das células epiteliais e, consequentemente, redução na produção de leite.

A gordura do leite bovino é o componente de maior variação, pois sua síntese é dependente de fatores genéticos, nutricionais e fisiológicos (Thaler Neto et al., 2017; Santos; Fonseca, 2019). Este componente também pode apresentar variações de acordo com as condições climáticas ou estágio de lactação, sendo menor nas primeiras semanas após o parto e aumentando de forma constante durante a lactação, especialmente no fim da lactação (Fox, 2009). Kappes (2020) também reporta que vacas em estágio de lactação avançado apresentam maiores teores de gordura e proteína, e menor produção de leite. Cardozo et al., (2013) e Lindmark-Mansson e Akesson, (2000) destacam que a suplementação com fontes de gordura tem capacidade de modular o perfil de ácidos graxos do leite, no entanto, podem haver alterações de várias características físicas e químicas da gordura do leite.

A lactose é o principal carboidrato do leite, conferindo-lhe o sabor adocicado, é sintetizado nas células epiteliais da glândula mamária, tendo a glicose como precursor. A glicose é formada através da gliconegênese hepática, por meio dos substratos glicogênicos oriundos da fermentação ruminal. Após a síntese, a lactose é transportada em vesículas e secretadas no lúmen alveolar, causando aumento da pressão osmótica e transporte de água para o lúmen (Fox, 2009; Osorio; Lohakare; Bionaz, 2016; Santos; Fonseca, 2019). Portanto, a síntese de lactose é fundamental no controle do volume de produção de leite (NRC, 2001). Wheelock et al., (2010) observaram que vacas em meio de lactação, em condições de estresse pelo calor, aumentaram a absorção de glicose pelos tecidos em vez da glândula mamária, limitando a disponibilidade de glicose para a síntese de lactose. Kappes et al., (2022) observaram reduções nos teores de lactose conforme o aumento das classes do Índice de Temperatura e Umidade (ITU), sendo que na classe seguro, ou seja, ausência de estresse pelo calor, o teor médio observado foi de 4,69%, enquanto que na classe perigo foi de 4,59% ($P<0,05$).

Bertocchi et al., (2014) destacam que a estação de verão é a mais crítica na Itália, sendo julho o mês mais desafiador ($P<0,001$) para contagem bacteriana total (CBT), teor de gordura e teor de proteína, demonstrando correlação negativa entre ITU e os teores de gordura e proteína do leite, apontando valores limites máximo de ITU de 50,2 a 65,2, sendo que acima disso os teores tende a apresentar reduções. Ravagnolo; Misztal; Hoogenboom, (2000)

observaram diminuições de 0,009 kg e 0,012 kg no rendimento de proteína e gordura, respectivamente, para cada unidade de ITU acima de 72.

As análises das propriedades físico-químicas do leite são baseadas nas Instruções Normativas nº 76 e 77, de 26 de novembro de 2018 (BRASIL, 2018; BRASIL, 2018) com o intuito de avaliar o estado de conservação do leite e investigar possíveis adulterações (Mendes et al., 2010). De acordo com a legislação, os valores referência para o índice crioscópico, acidez titulável e estabilidade ao teste do álcool devem ser de -0,512°C a -0,536 °C, 14°D a 16°D e concentração mínima de 72% v/v, respectivamente (BRASIL, 2018).

O índice crioscópico aponta a temperatura de congelamento do leite, a qual pode apresentar variações de acordo com a osmolaridade e a concentração de solutos, influência da fase de lactação, alimentação, estação do ano, clima e raça ou fraude por adição de água. A acidez titulável é avaliada para detectar possível aumento da concentração de ácido láctico, resultante da fermentação da lactose por microrganismos mesófilos, o que torna o leite inadequado ao processamento térmico. A estabilidade ao teste do álcool avalia a estabilidade das proteínas do leite, em caso de coagulação ou floculação do leite, o resultado indica leite ácido ou instável (Santos; Fonseca, 2019).

1.2 ESTRESSE PELO CALOR EM VACAS LEITEIRAS

As constantes alterações climáticas tornaram-se uma preocupação com o conforto térmico dos animais de produção (Nardone et al., 2010), especialmente em países de clima tropical. O clima não é estático, apresentando variações regionais, e em função do Brasil ser um país de clima tropical e subtropical, com predominância do clima tropical, apresentam-se como característica duas estações do ano bem definidas, uma delas quente e outra com temperaturas amenas. Na região Sul do país, a temperatura do ar encontra-se entre 5°C e 7°C nos períodos frios, com temperaturas médias entre 18°C e 27°C, e máxima acima dos 30°C nos meses mais quentes (AYOADE, 1996; AZEVÊDO; ALVES, 2009; PINHEIRO, 2012).

Existem diferentes forma de avaliar o conforto térmico dos animais. Com a utilização de tecnologias atuais, através de equipamentos e softwares, é possível obter medições contínuas das condições ambientais (temperatura do ar, umidade relativa do ar, radiação solar, velocidade do vento), temperatura interna do corpo (Curtis et al., 2017) e sensores eletrônicos de monitoramento que permitem medir os períodos de atividade e ruminação (Elischer et al., 2013; Kappes et al., 2021). Também há índices que são utilizados para avaliar os efeitos das elevadas temperaturas sobre os animais, dentre eles o ITU, calculado a partir temperatura do

ar e umidade relativa do ar, representando o limite da zona de termoneutralidade (Borburema et al., 2013). Moretti et al. (2017) dividiu o ITU em seis classes, seguro (<68), desconforto leve ($68 \leq \text{THI} < 72$), desconforto ($72 \leq \text{THI} < 75$), alerta ($75 \leq \text{THI} < 79$), perigo ($79 \leq \text{THI} < 84$) e emergência (≥ 84). Borburema et al. (2013), descrevem que o ITU até 72 representa o limite da zona de termoneutralidade para vacas em produção, acima disso, comprometem o desempenho produtivo do animal.

A elevação na temperatura ambiental e, consequentemente, no ITU podem causar estresse pelo calor, o qual é definido como uma condição fisiológica, quando a temperatura excede a zona de termoneutralidade do animal (Bernabucci et al., 2010).

Vacas de origem europeia destacam-se por sua alta produtividade e desempenho, porém estes animais apresentam baixa rusticidade, sendo sensíveis às condições climáticas e de manejo (Bernabucci et al., 2010). De acordo com o (NRC, 2001) a zona de termoneutralidade é entre 5°C e 20°C para vacas de origem europeia. Pires et al. (1998) afirmam que quando os animais estão expostos a condições em que a produção de calor excede a eliminação, todas as fontes que geram calor endógeno são inibidas na tentativa de minimizar o desequilíbrio térmico, principalmente o consumo de alimentos, metabolismo basal e energético.

Em sistemas de pastejo, quando os animais estão expostos a elevadas temperaturas, há redução voluntária no consumo de alimentos volumosos em função da produção de calor ser maior, quando comparado a alimentos ricos em concentrado, porém o fornecimento de fibra é necessário para a manutenção das funções ruminais (Azevêdo; Alves, 2009; Karvatte et al., 2016). Já os concentrados apresentam maior densidade energética quando comparados às forragens, porém, quando inclusos em grandes quantidades na dieta tendem a apresentar redução no pH ruminal e na digestibilidade da fibra, redução na relação acetato:propionato, além de aumentar o risco de acidose ruminal (Hills et al., 2015) e reduzir a concentração de gordura do leite, pois o acetato é um dos precursores primários na síntese de gordura do leite (MAPATO; WANAPAT; CHERDTHONG, 2010).

Com a redução de consumo, há menor disponibilidade de nutrientes essenciais e energia metabolizável (Santos; Fonseca, 2019). Como consequência, há limitação no desempenho animal em suas atividades físicas, metabólicas e desempenho produtivo (Arrigoni et al., 2015), com implicações adversas na reprodução (Nordlund et al., 2019), colocando em risco o bem-estar animal (Baumgard et al., 2015), e influenciando negativamente a produção e qualidade do leite (BECKER; COLLIER; STONE, 2020; RHOADS et al., 2009).

As respostas imediatas são a redução na ingestão de matéria seca (MS) (Baumgard et al., 2015), aumento da frequência respiratória e frequência cardíaca, aumento da taxa de sudação,

aumento da temperatura corporal interna e aumento no consumo de água (Pires et al., 1998). Isso explica, parcialmente, porque as vacas perdem quantidades significativas de peso e escore de condição corporal quando submetidas a condições de estresse pelo calor (LACETERA et al., 1996; BOURAOUI et al., 2002).

A diminuição da produção e o aumento da contagem de células somáticas (CCS) também são efeitos negativos reconhecidos durante o verão e estão diretamente relacionados à função da glândula mamária. As funções das células mamárias são alteradas quando o animal é exposto a altas temperaturas, causando a diminuição do número total de epitélios da glândula mamária, o que explica parcialmente a diminuição da produção de leite de vacas em lactação sobre estresse pelo calor (Tao et al., 2018). Além disso, o estresse pelo calor aumenta a utilização sistêmica de aminoácidos, limitando o suprimento de aminoácidos da síntese de proteínas do leite (GAO et al., 2017).

As principais formas que podem ser adotadas para controlar o estresse pelo calor, são o fornecimento de áreas sombreadas, adoção do sistema silvipastoril, disponibilidade de água, ventilação e manejo nutricional (EMBRAPA, 2004; Biavatti; Berber; Berber, 2014). Com a finalidade de aumentar a produção de leite nos meses quentes, pesquisadores realizam estudos utilizando alternativas para reduzir os efeitos do estresse pelo calor, como mudanças na dieta e alimentação em diferentes horários do dia, adição de fontes de lipídios ou ionóforos na dieta (BECKER; COLLIER; STONE, 2020).

1.3 SUPLEMENTAÇÃO LIPÍDICA

A suplementação com gordura nas dietas de vacas leiteiras tem sido uma prática nutricional utilizada desde a década de 60 (Berchielli et al., 2011). Os lipídios são os principais elementos utilizados para aumentar a densidade energética das rações e o consumo de energia, por serem constituídos de grandes proporções de ácidos graxos, os quais possuem 2,25 vezes mais energia prontamente disponível para ser utilizada pelo metabolismo animal (Smith, 1990; Fanchone et al., 2013). Segundo Medeiros et al., (2015) e Messana et al., (2012), a dieta de ruminantes baseada em forragens, geralmente, apresenta baixos teores de lipídios, próximos a 3% na matéria seca. Através da suplementação é possível proporcionar o incremento energético, resultando em melhoria na eficiência alimentar, no desempenho animal e, consequentemente, no incremento na produção e composição do leite. Porém, o teor de lipídios não deve ultrapassar 7% da matéria seca total da dieta, podendo afetar as atividades da flora microbiana e influenciar negativamente sobre a digestibilidade da fibra no

processo de fermentação ruminal (Cardozo et al., 2013; Kozloski, 2019; NRC, 2001). Esta afirmação, referente à digestibilidade da fibra a nível de rúmen é sustentada por duas teorias, conforme descrevem Medeiros et al. (2015) e Kozloski (2019). Uma teoria propõe a existência de um efeito tóxico dos ácidos graxos, especialmente os insaturados, para as bactérias celulolíticas, alterando sua fluidez e permeabilidade. Outra está associada à propriedade adsorvente dos ácidos graxos insaturados que, em excesso, formariam uma cobertura de natureza hidrofóbica na célula bacteriana ou na partícula de alimento, impedindo o metabolismo da bactéria ou sua adesão na partícula.

No entanto, a quantidade e o tipo de gordura adicionado à dieta podem influenciar a biohidrogenação de lipídios no rúmen. Por exemplo, sementes de oleaginosas como linhaça, girassol e canola contém, principalmente, C18 PUFA e MUFA, esses ácidos graxos são biohidrogenados no rúmen e induzem a síntese de intermediários, como isômeros trans e conjugados (CHILLIARD et al., 2007).

1.3.1 Óleo de linhaça

Segundo Costa; Queiroga; Pereira, (2009) e Parikh et al. (2019), a utilização de produtos a base de linhaça na alimentação animal, em especial ruminantes, desperta interesses dos consumidores pela capacidade de produzir alimentos diferenciados, associados à preocupação do consumidor com sua saúde, pois as sementes de oleaginosas são ricas em ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), quando fornecido às vacas leiteiras, podem modular o perfil de ácidos graxos do leite (Kennelly, 1996), apresentando diminuição do teor de ácidos graxos de cadeia média e aumento no teor de ácidos graxos de cadeia longa (TOLENTINO et al., 2015).

A linhaça (*Linum usitatissimum*) é uma das oleaginosas mais pesquisadas para a nutrição de vacas (Petit, 2010), destacando-se como uma das principais fontes de ômega-3 do reino vegetal (TBCA, 2020). Apresenta em sua composição, aproximadamente, 94% de matéria seca, 28-50% de óleo, 20-34% de proteína, 2-4% de matéria mineral e 25-30% de fibra (Kajla; Sharma; Sood, 2014; Petit, 2010). O óleo de linhaça é composto por 98% de triacilglicerídeos e fosfolipídios e apresenta cerca de 12% de ácidos graxos saturados, 22% de ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) e 60% de PUFA, onde 40 a 60% dos ácidos graxos poliinsaturados são representados pelo ácido alfa-linolênico, um ácido graxo essencial que não é sintetizado pelo organismo dos mamíferos (PETIT, 2010; ZANQUI et al., 2015).

Quando adicionada em dietas de bovinos leiteiros, pode aumentar a concentração do ácido linoleico conjugado (CLA) no leite dos animais durante a biohidrogenação dele até o

ácido graxo C18:1 trans-11, pois o ômega-3 é precursor desse ácido graxo durante o processo de biohidrogenação ruminal (Cardozo et al., 2013) melhorando o perfil nutricional da gordura do leite através da diminuição de ácidos graxos aterogênicos e aumentando a proporção de C18:3 n3 (CAROPRESE et al., 2010; GLASSER; FERLAY; CHILLIARD, 2008).

Esta fonte rica em ácidos graxos poliinsaturados também tem sido associada à redução na produção de metano (CH_4) em vacas leiteiras (Martin et al., 2016), visto que diminuem a quantidade de alguns protozoários no rúmen que são produtores de hidrogênio, precursor do metano (Doreau; Ferlay, 2015). A mitigação do metano ocorre através do sequestro destes íons de hidrogênio (H^+) no meio ruminal, permitindo que as bactérias façam a biohidrogenação dos ácidos graxos poliinsaturados, formando ácidos graxos monoinsaturados e saturados, consequentemente, diminuindo a disponibilidade dos íons H^+ para as bactérias *Archaea metanogênicas* produzirem metano (Benchaar; Pomar; Chiquette, 2001). Outros benefícios observados são em relação à saúde humana, principalmente fatores ligados à doenças cardiovasculares (Calder, 2012; Salter, 2013), agente anticancerígeno e sua capacidade de estimular o sistema imunológico (KLIEM; SHINGFIELD, 2016).

Chilliard et al. (2003) afirma que as respostas à suplementação lipídica são variáveis entre espécies, cabras e ovelhas apresentam aumento na secreção de gordura, enquanto que em vacas pode apresentar aumento ou até diminuição da secreção de gordura. De acordo com o NRC (2001), as respostas produtivas de vacas que recebem a suplementação de gordura na dieta é dependente da dieta basal, do estágio de lactação, do balanço energético, da composição e quantidade da fonte de gordura utilizada.

2. HIPÓTESE

Sob condições de estresse pelo calor, no verão, a adição de óleo de linhaça melhora o desempenho animal e a qualidade do leite.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a resposta à adição de óleo de linhaça no suplemento concentrado de vacas em pastejo, quanto à produção, qualidade do leite e aspectos fisiológicos, no verão e primavera.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Avaliar o efeito da suplementação com óleo de linhaça sobre a produção e composição do

leite em condições de conforto e estresse pelo calor.

- b) Avaliar se a suplementação com óleo de linhaça é capaz de alterar a composição dos ácidos graxos do leite, com possíveis benefícios à saúde humana.
- c) Avaliar se a suplementação com óleo de linhaça melhora a adaptação dos animais a condições de estresse pelo calor.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O projeto de pesquisa foi conduzido no setor de bovinocultura leiteira do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV-UDESC), localizado na cidade de Lages, SC, Brasil (latitude 27°48'58", longitude 50°19'34", altitude de 950 metros acima do nível do mar). O Comitê de Ética e Experimentação Animal da mesma universidade aprovou todos os procedimentos envolvendo as vacas, sob o número de protocolo 6088171021.

4.1 ANIMAIS, TRATAMENTOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Para haver comparação dos dados quando os animais estavam sob diferentes condições climáticas, nas diferentes estações do ano, o projeto foi conduzido em dois experimentos, sendo eles: I – estação de primavera, com início em 10/09/2021 e II – estação de verão, com início em 18/02/2022. Cada experimento foi composto por dois períodos experimentais, e cada período experimental teve duração de 22 dias, sendo 15 dias para adaptação aos tratamentos e 7 dias para avaliação da produção leiteira, coleta de dados e amostras.

No primeiro experimento, foram utilizadas doze vacas da raça Holandês e mestiças Holandês x Jersey (160 ± 64 dias em lactação, 548 ± 50 kg de peso vivo, $24,59 \pm 5,04$ kg/dia de leite e $2,58 \pm 1,01$ partos). No segundo experimento, também foram utilizadas doze vacas da raça Holandês e mestiças Holandês x Jersey (196 ± 49 dias em lactação, 553 ± 60 kg de peso vivo, $21,73 \pm 2,44$ kg/dia de leite e $2,33 \pm 1,39$ partos). Porém, por motivos de sanidade, foram retirados dois animais, permanecendo cinco vacas por tratamento no segundo experimento.

Ambos os experimentos foram conduzido em um delineamento em quadrado latino 2 x 2, com 2 tratamentos e 2 períodos. As vacas eram homogêneas em cada tratamento, quanto ao número de dias em lactação (DEL), peso vivo (PV), produção de leite (kg/dia), ordem de parto (OP) e grupamento genético (GG).

Os tratamentos avaliados foram: Tratamento Testemunha (TT) = pastagem e

suplementação com 6 kg/dia de concentrado convencional; Tratamento com Linhaça (TL6) = pastagem e suplementação com 6 kg/dia de concentrado com adição de 400 g/dia de óleo de linhaça, visando seis porcento de lipídios na dieta. O sistema de pastejo adotado foi o sistema rotacionado, com divisão da área em piquetes submetidos a períodos alternados de pastejo e descanso. Durante o experimento I – estação de primavera, foi utilizada pastagem de azevém tetraplóide INIA Titan® (*Lolium multiflorum* var. *Italicum*) e no experimento II - estação de verão, pastagem de milheto (*Pennisetum americanum*) (Figura 1). Durante ambos os experimentos foram realizadas coletas dos alimentos para análise bromatológica e análise do perfil de ácidos graxos.

As ordenhas eram realizadas em dois horários, às 07:00 horas e às 15:00 horas, através de ordenhadeira mecânica em sala de ordenha tipo espinha de peixe bilateral. Após às ordenhas as vacas recebiam concentrado, de acordo com seu tratamento, em cochos separados por canzis de contenção individual. Posteriormente as vacas eram levadas aos piquetes para pastejo, sem acesso a água e sombra, onde permaneciam até a próxima ordenha (Figura 1).

Figura 1- Fotos dos experimentos. A: área experimental com cultivo de azevém. B: área experimental com cultivo de milheto. C e D: detalhes do fornecimento de concentrado, no cocho, de acordo com cada tratamento.



Fonte: Arquivo Pessoal.

4.2 DADOS CLIMÁTICOS

Durante todos os períodos experimentais foram registradas as condições meteorológicas (temperatura, umidade relativa do ar, velocidade e direção do vento, radiação solar e precipitação) por meio da estação meteorológica ATMOS 41 (METER Group, Court Pullman,

WA, EUA), acoplada a um *datalogger* Zentra ZL6 (METER Group, Court Pullman, WA, EUA) que foi instalada na área central do setor e programado para coleta de dados em intervalo de 15 minutos, durante 24 horas. A partir dos dados de temperatura e umidade foi calculado o índice de temperatura e umidade, de acordo com a equação $ITU = (1,8 \times T + 32) - [(0,55 - 0,0055 \times UR) \times (1,8 \times T - 26)]$, onde: T = temperatura do ar ($^{\circ}$ C) e UR = umidade relativa do ar (%) (MADER; DAVIS; BROWN-BRANDL, 2006).

4.3 MONITORAMENTO ELETRÔNICO DA RUMINAÇÃO E ATIVIDADE

Dez dias antes do período experimental as vacas foram equipadas com colares de monitoramento eletrônico da SCR da Allflex® para adaptação e cadastramento no programa *HealthyCow24* – SCR. Os colares contêm em seu dispositivo um microfone e um acelerômetro de três eixos para captar as informações, assim como microprocessador e transponder, que processam e emitem as informações para o computador central. Este dispositivo fica localizado no lado esquerdo do pescoço, atrás da mandíbula, captando os sons de regurgitação e redeglutição, através do microfone, contabilizando como ruminação apenas quando a diferença desse tempo seja superior a 30 segundos. O acelerômetro de três eixos capta a movimentação em três direção, frontal, lateral e rotação de pescoço. A velocidade da movimentação para cada uma das direções gera unidades de atividade, as quais são somadas e contabilizadas ao longo das duas horas. Para fins deste estudo as unidades de atividade serão tratadas apenas como atividade e as informações de ruminação e atividade contabilizadas em intervalos de duas horas.

4.4 ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL

O escore de condição corporal (ECC) foi determinado no dia 0 do período de adaptação e no 15^o, 18^o e 21^o dia do período de avaliação, utilizando escala variando de 1 (vacas extremamente magras) a 5 (vacas extremamente gordas) (FERGUSON; GALLIGAN; THOMSEN, 1994).

4.5 FREQUÊNCIA CARDÍACA, FREQUÊNCIA RESPIRATÓRIA, TEMPERATURA CORPORAL INTERNA

No 15^o, 18^o e 21^o dia de cada período experimental, após as ordenhas da manhã e da tarde, foram realizadas avaliações da frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura retal (TR) e temperatura vaginal (TV).

A FC (batimentos/minuto) foi avaliada com auxílio de um estetoscópio, na região ventral

do terceiro ao quinto espaço intercostal esquerdo, por um minuto. A FR (movimentos/min) foi aferida por meio de contagem de movimentos do flanco, durante 15 segundos e posteriormente multiplicado por quatro para obtenção da frequência cardíaca por minuto (PILATTI, 2017).

No experimento I a temperatura retal foi aferida com um termômetro clínico (G Tech), cuidadosamente inserido no reto. No experimento II a temperatura vaginal (TV) foi registrada por meio de *dataloggers* intravaginais da HOBO Pendant® MX2201, programados para coletar os dados em intervalos de 15 minutos. Posteriormente foram calculadas as médias de temperatura vaginal para os dias de avaliação, utilizando os dados em intervalos de trinta minutos. As TR e TV serão tratadas como temperatura corporal interna.

4.6 CONTROLE DE PRODUÇÃO, COLETAS E ANÁLISES DE AMOSTRAS DE LEITE

A produção individual (litros/dia) foi medida diariamente durante os períodos experimentais através de anotação dos dados fornecidos pelos medidores eletrônicos da marca Waikato®. Nos dias 0, 15, 18 e 21 foram realizadas coletas de todo o leite do coletor da respectiva ordenha, com prévia homogenização. Parte da amostra foi transferida para um frasco de 40 mL, contendo conservante bactericida bronopol (2-bromo-2-nitropopane-1,3-diol) para posterior análise de composição (gordura, proteína, caseína, lactose, extrato seco desengordurado e nitrogênio ureico do leite) por espectrometria infravermelha de transformada de Fourier no equipamento Dairy Spec (Bentley instruments). O restante da amostra foi acondicionado em frasco sem conservante e analisado após a ordenha para o teste de resistência ao teste do álcool, acidez titulável, índice crioscópico e cloretos quantitativos.

Para o teste de resistência ao álcool foram adicionados 2 mL de leite e 2 mL de álcool em uma placa de Petri sob um fundo preto e homogeneizado, considerando a amostra estável na concentração alcoólica anterior à formação de grumos. As concentrações de álcool variaram de 56 à 86% v/v, com intervalos de 2%. A acidez titulável foi determinada em graus Dornic (°D), sendo transferidos 10 mL da amostra de leite para um bêquer, na sequência adicionava-se 3 gotas de fenolftaleína a 1% e titulava-se com solução Dornic (0,11 N ou N/9) até o aparecimento de coloração rósea persistente por aproximadamente 30 segundos. O índice crioscópico foi analisado por criscopia eletrônica. A determinação quantitativa de cloretos baseou-se no Método de Mohr adaptado utilizando condutivímetro digital (GARGOURI; HAMED; ELFEKI, 2013).

No 21º dia do período experimental foram obtidas amostras de leite para determinação do perfil de ácidos graxos.

4.7 DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE E DOS ALIMENTOS

A extração de lipídios foi determinada de acordo com o método de Bligh e Dyer, (1959). Para as amostras de leite foram utilizadas alíquotas de 4 mL, as amostras de ração foram pesados 5 gramas para o farelo de milho e para o farelo de soja, e 2 gramas para pastagem de milheto e para a pastagem de azevém. Todas as amostras foram inseridas em tubos falcon de 50 mL, juntamente com 2 mL de água destilada, 16 mL de metanol e 8 mL de clorofórmio. Em seguida, foram submetidas a agitação mecânica, em uma mesa agitadora, onde permaneceram por uma hora. Decorrido este tempo, foram adicionados 8 mL de clorofórmio e 8 mL de sulfato de sódio 1,5% em solução aquosa. Logo, as amostras passaram por homogenização seguidas de centrifugação. Foram coletados 20 mg da fração lipídica para evaporação com auxílio de bomba à vácuo, a 40°C.

A formação de ésteres metílicos foi realizada de acordo com Hartman e Lago (1973). Iniciou com adição de 1 mL de hidróxido de potássio 0,4 M em metano. A solução foi homogenizada e submetida à 100°C por 10 minutos. Posteriormente, foram adicionados 3 mL de ácido sulfúrico 1 M em metano e a amostra foi novamente submetida à aquecimento. Por fim, 2 mL de hexano (PA) foram adicionados, seguidos de agitação e centrifugação.

O sobrenadante foi coletado e 1 μ L de amostra foi injetado em um cromatógrafo gasoso equipado com detector de ionização em chama (GC-FID; Varian Star 3400, USA) e autosampler (Varian 8100, USA). A coluna utilizada foi a HP-88 (100 m x 0,25 mm), sua temperatura inicial foi de 50°C durante um minuto, aumentou 15°C⁻¹, atingindo 185°C e logo após atingiu 195°C com uma taxa de 1°C min⁻¹, por fim, alcançou 230°C a 10° min⁻¹, permanecendo assim por 5 minutos. O detector e o injetor foram mantidos a 250°C. Os ésteres metílicos foram determinados através da comparação dos tempos de retenção dos analitos com o padrão empregado (MIX-37).

4.8 COLETA E ANÁLISE DE AMOSTRAS DE SANGUE

Após a ordenha da tarde do último dia de cada período experimental, foram coletadas amostras de sangue periférico para determinação da concentração de beta-hidroxibutirato (BHBA) e glicose. As análises foram realizadas utilizando um analisador portátil Optium

Xceed (Abbott, Chicago, Illinois, USA). Foram utilizadas tiras para análise de glicose e beta-hidroxibutirato (Abbott, Chicago, Illinois, USA).

4.9 ANÁLISE DE DADOS

Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando o procedimento MIXED do pacote estatístico SAS®. Inicialmente foram realizadas análises de cada um dos experimentos em separado. Para fins de análise foram utilizados os dados dos dias 1, 3 e 7 da fase de avaliação. O modelo estatístico incluiu os efeitos fixos do dos tratamentos, período (1º e 2º), dia de avaliação (1, 3 e 7) aninhado em período, das interações entre tratamento e período e entre tratamento e dia de avaliação, assim como do erro experimental. Para as concentrações sanguíneas de glicose e beta-hidroxibutirato o modelo inclui os efeitos do tratamento, do período, da interação entre estes e do erro experimental.

Posteriormente foi realizada uma análise de grupo de experimentos visando avaliar diferenças no efeito de tratamento em condições de primavera e verão. Nestas análises o modelo estatístico incluiu os efeitos fixos do dos tratamentos, experimento, período (1º e 2º) aninhado dentro de experimento, das interações entre tratamento e experimento e entre tratamento e período, assim como do erro experimental.

Todas as variáveis foram testadas para normalidade de resíduos pelo procedimento UNIVARIATE do pacote estatístico SAS 9.4®, usando o teste de Kolmogorov Smirnov com significância de 0,05. Variáveis foram consideradas com diferença quando $P \leq 0,05$, quando $0,05 < P \leq 0,10$ foi considerada tendência.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CONDIÇÕES AMBIENTAIS

Nos períodos de avaliação do experimento de primavera os valores médios do índice de temperatura e umidade foram inferiores ao nível considerado seguro, que é de 68 (Moretti et al., 2017). Mesmo as médias das máximas só ultrapassaram este valor no segundo período, encontrando-se na faixa de leve desconforto (Tabela 9). No experimento de verão, no primeiro período as vacas foram submetidas a condições de estresse pelo calor, com média das máximas de 77,45 (Tabela 9), o que equivale a faixa considerada de alerta, resultante de temperaturas não muito elevadas (27,55 °C), porém com elevada umidade relativa do ar (98,3%). No segundo período do experimento as condições meteorológicas foram similares ao da primavera, o que pode ser atribuído ao fato de que o experimento somente pode ser iniciado em 18/02/2022, em função de um prolongado período de estiagem.

5.2 PRODUÇÃO E QUALIDADE DO LEITE

A produção de leite não foi influenciada pela suplementação com óleo de linhaça no experimento de primavera (Tabela 1), porém ocorreu um incremento de aproximadamente 1 kg de leite/vaca/dia com a suplementação com óleo de linhaça no verão (Tabela 3). A análise conjunta dos experimentos de primavera e verão (Tabela 5) demonstrou uma tendência de interação entre tratamento e experimento, confirmando a maior produção de leite nas vacas suplementadas no verão. A adição de lipídios na dieta proporciona um incremento energético. No verão, sob condições de estresse pelo calor, o efeito é maior, visto que o consumo esperado das vacas é menor, sendo que fontes de gordura apresentam alta densidade energética sem causar aumento no incremento calórico (BECKER; COLLIER; STONE, 2020).

No experimento de primavera a suplementação com óleo de linhaça não afetou o percentual de gordura do leite (Tabela 1). Porém, no experimento de verão a suplementação reduziu o teor de gordura do leite (Tabela 3) (3,80 vs 3,58%). A diferença foi significativa quando se consideram ambos os experimentos de forma conjunta (3,93 vs 3,78% - $P < 0,01$ - Tabela 5). Em ambas as análises não houve diferença entre os tratamentos para a produção de gordura (kg/dia).

Quando suplementados com fontes de gordura insaturada, o excesso de ácidos graxos insaturados no rúmen pode apresentar efeito tóxico aos microrganismos responsáveis pela degradação da fibra. Consequentemente, há redução na produção de ácidos graxos voláteis,

em especial o acetato e o Beta-hidroxibutirato que são os precursores da gordura (síntese *de novo*) na glândula mamária (Mapato; Wanapat; Cherdthong, 2010; Medeiros et al, 2015). A biohidrogenação incompleta até C18:0 proporciona a síntese e formação de ácidos graxos intermediários, como isômeros e conjugados (CHILLIARD et al., 2007).

Ocorreu um aumento significativo para o CLA C18:2 trans-10 cis-12 no verão (Tabela 8), o que pode explicar pelo menos parcialmente a redução de gordura neste período, pois o CLA C18:2 trans-10 cis-12 é responsável pela depressão de gordura do leite (Souza et al., 2017). A depressão de gordura no leite é resultado de mudanças na alimentação, e ocorre através da utilização de dietas altamente fermentáveis ou dietas suplementadas com fontes lipídicas (Bauman; Harvatine; Lock, 2011; Harvatine; Boisclair; Bauman, 2014), podendo apresentar reduções de até 50% na produção de gordura do leite, sem alterar o rendimento de leite e seus componentes (Souza et al., 2017). Além disto, no experimento de verão ocorreu um incremento na produção de leite (Tabela 3), o que também pode ter afetado o teor de gordura do leite.

A relação gordura:proteína se manteve em valores próximos a 1,2, valores estes próximos aos observados em outros experimentos (Buttchereit et al., 2010; Kappes, 2020; Negussie; Strandén; Mäntysaari, 2013). O valor teve uma tendência de ser menor no verão (Tabela 3) em função da redução no teor de proteína.

O teor de proteína do leite diminui com a suplementação com óleo de linhaça ($P \leq 0,05$), quando se consideram ambos os experimentos em conjunto (Tabela 5). O teor de caseína também apresentou redução com a suplementação com óleo de linhaça nos experimentos de primavera (Tabela 1) e verão (Tabela 3).

Possivelmente houve menor eficiência na síntese proteica microbiana quando os animais foram suplementados com óleo de linhaça, consequentemente, ocorreu redução na formação e disponibilidade de aminoácidos para a síntese de proteínas na glândula mamária (Gao et al., 2017). Porém os resultados para a síntese de proteína são distintos quando as vacas são suplementadas com fontes de lipídeos. Sharifi et al., (2016) observaram redução no teor de proteína do leite de vacas que receberam suplementação lipídica. Enquanto que Auldist et al., (2013) observaram que a suplementação lipídica não reduziu o teor de proteína do leite, mas a produção de proteína aumentou 22,8 g/dia, principalmente devido ao aumento na produção de leite. Gheno, (2023) observou aumento de 3,9 g/dia para a produção de proteína (kg/dia) quando as vacas foram suplementadas com óleo de linhaça, e houve uma tendência de interação entre tratamento e experimento para a produção de caseína (kg/dia) sendo maior para o tratamento controle (Tabela 5). Em função do menor teor de caseína houve uma

redução na relação caseína:proteína (Tabelas 1, 3 e 5). Entretanto os valores médios foram de 0,81 e 0,79 (Tabela 5), valores estes que podem ser considerados normais.

Não foram observados efeitos dos tratamentos sobre o teor de lactose e produção de lactose (kg/dia) para os experimentos de primavera (Tabela 1) e verão (Tabela 3). Também não foram encontrados efeitos de tratamento sobre a concentração sérica de glicose, precursor da lactose, na primavera (Tabela 2) e verão (Tabela 4). Segundo Lago et al., (2004) a glicose é o principal regulador do metabolismo, sua obtenção ocorre através da fermentação dos alimentos no rúmen e sintetização dos ácidos graxos voláteis no fígado. Os níveis de glicose no sangue de vaca estão entre 45 a 75 mg/dL (Kaneko; Harvet; Bruss, 2008), valores compatíveis com os observados no presente experimento.

Quando necessário, podem ser utilizadas as reservas energéticas através da lipólise do tecido adiposo, onde o glicerol é liberado na corrente sanguínea e sintetizado em glicose no fígado (Kozloski, 2019). A glicose é o principal precursor da lactose, e a lactose o componente que determina a osmolaridade do leite, sendo responsável pela metade da pressão osmótica e pela redução do ponto crioscópico (Jamali et al., 2018). De acordo com Santos e Fonseca, (2019) e Fagnani et al., (2014), o índice crioscópico do leite apresenta variações de acordo com a osmolaridade e a concentração de solutos do leite, os componentes do leite que mais contribuem para o aumento do índice crioscópico são a lactose (55%), cloro (25%) e outros minerais (Ca, K, Mg, fosfato, citrato – 20 %). O índice crioscópico não foi afetado pela suplementação com óleo de linhaça, tanto experimento de primavera (Tabela 1) como de verão (Tabela 3).

A suplementação com óleo de linhaça reduziu o teor de extrato seco desengordurado (ESD), assim como de extrato seco total (EST) no experimento de primavera (Tabela 1), o qual é condizente com a redução do teor de proteína, um dos componentes do ESD e do EST. Porém, os valores médios de ESD próximos a 8,9% (Tabela 5) estão bem acima do mínimo exigido pela Instrução Normativa 76/2018 (BRASIL, 2018), assim como os teores médios de EST próximos a 12,8% (tabela 5) estão muito acima do mínimo de 11,4% exigidos pela mesma normativa. As produções de ESD e EST (kg/dia) aumentaram com a suplementação com óleo de linhaça no experimento de verão (Tabela 3), o que é compatível com o respectivo aumento na produção de leite.

A acidez titulável apresentou diferença ($P \leq 0,05$), sendo maior quando houve a suplementação com óleo de linhaça (17,36 °D vs. 16,63 °D) no experimento de verão (Tabela 3), o mesmo também foi encontrado análise conjunta (Tabela 5), sendo que se apresentou tendência de interação entre tratamento e experimento.

A resistência ao teste do álcool aumentou com a suplementação com óleo de linhaça nos experimentos de primavera (Tabela 1), verão (Tabela 3) e para a análise conjunta ($P<0,0001$ – Tabela 5).

Abreu, (2015) avaliando animais com e sem acesso à sombra, associou a redução na estabilidade do leite ao teste do álcool e a acidez titulável à redução no consumo de alimento durante o estresse pelo calor. Apesar de não ter mensurado o consumo de alimento, foram observadas reduções dos tempos de ruminação e atividade.

No presente experimento foram encontradas diferenças para a ruminação na análise conjunta (Figura 6), sendo que a ruminação foi maior quando os animais foram suplementados com óleo de linhaça, não houvendo diferença para a atividade quanto aos tratamentos. Os resultados corroboram com Vizzotto et al., (2015) que, quando os animais foram submetidos a leve estresse pelo calor, não houve diferenças nos tempos de atividade, apenas uma pequena redução no tempo de ruminação.

O teor de cloretos apresentou tendência de redução com a suplementação com óleo de linhaça na primavera (Tabela 1) e foi significativo no verão (Tabela 3). Em ambos os casos o teor de cloretos se encontrou na faixa normal de 0,08 a 0,1% para animais sadios.

As análises de cloretos são realizadas, principalmente para detectar fraudes por adição de cloretos no leite (Raimondo et al., 2009). De acordo com Brasil (2013), a alimentação, estado de hidratação, raça, número de lactações e estágio de lactação também são fatores que podem aumentar a concentração de cloretos no leite, apontando que nem todo o resultado positivo é indicativo de fraude.

5.3 ASPECTOS FISIOLÓGICOS

Não foram observados efeitos dos tratamentos sobre os níveis de BHBA nos experimentos de primavera (Tabela 2) e verão (Tabela 4), corroborando com Knob et al., (2021), os quais não encontraram diferenças na concentração de BHBA quando avaliadas vacas Holandês e mestiças Holandês x Simmental durante o período de transição. Os valores encontrados estão de acordo com os valores referência, segundo Duffield et al., (1998) e Ospina et al., (2010), os níveis de beta-hidroxibutirato na corrente sanguínea são classificados como: $\text{BHBA} \leq 1,1 \text{ mmol/L}$ (ausência de cetose), $\text{BHBA} \geq 1,2 \text{ mmol/L}$ (cetose subclínica) e $\text{BHBA} \geq 2,9 \text{ mmol/L}$ (cetose clínica). A cetose é uma doença causada pelo aumento na concentração de corpos cetônicos na corrente sanguínea, principalmente de Beta-hidroxibutirato, tendo sua maior incidência no pós-parto imediato (PONCHEKI, 2019).

A suplementação com óleo de linhaça foi eficiente na redução da frequência cardíaca e da temperatura corporal no período da tarde, quando os animais estão mais expostos ao estresse pelo calor (Tabela 6), indicando uma maior capacidade de adaptação das vacas suplementadas com óleo de linhaça.

5.4 CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS

Os ácidos graxos presentes na gordura do leite podem ser classificados quanto a sua origem: 1- ácidos graxos formados na glândula mamária oriundos da síntese “*de novo*”, são ácidos graxos com menos de 16 carbonos. 2 - ácidos graxos originário da dieta ou da mobilização corporal, os quais não são formados pela glândula mamária, são ácidos graxos com mais de 16 carbonos. 3 - mistos, podem ser formados na glândula mamária ou oriundos da dieta e mobilização de gordura (Santos e Fonseca, 2019).

Para os ácidos formados na glândula mamária, podemos observar um aumento significativo de C4:0 na primavera (Tabela 7) quando ocorreu a suplementação com óleo de linhaça, e diferença para C10:0 e C12:0 no verão (Tabela 8). Em ambos os experimentos (Tabelas 7 e 8) foram observadas diferenças para os seguintes ácidos, C15:0, C16:1, C17:0 e C17:1, sendo maiores para o tratamento controle. Este aumento de ácidos graxos mistos no experimento de verão pode ser associado à redução no consumo de alimento ou da mobilização de gordura quando os animais experimentaram condições de leve estresse pelo calor (Tabela 9).

Os ácidos de cadeia longa (C18 – Tabelas 7 e 8) apresentaram diferenças quanto ao tratamento, sendo maiores para a suplementação, com exceção do CLA C18:2 trans-10 cis-12. Corroborando com (Cardozo et al., 2013), onde estes ácidos apresentaram aumento no grupo com óleo de linhaça em relação ao controle.

A suplementação com óleo de linhaça aumentou o teor de ômega-3 na gordura do leite em ambos os experimentos (Tabelas 7 e 8), pois o ácido graxo C18:3 n-3 (alfa-linolênico) é responsável por 40% a 60% dos PUFA's presentes no óleo de linhaça (Marchi; Lima, 2021) e as pastagens também contribuem com níveis significativos de ômega-3 (Tabela 10). A maior diferença foi observada na primavera (0,7273 vs. 0,4311 - Tabela 7), sendo superior ao grupo suplementado, podendo ser explicado parcialmente pela melhor qualidade da forragem.

Quando ocorre queda no pH ruminal, por meio de dietas com baixo teor fibra ou altos níveis de concentrado, há alterações na rota de biohidrogenação ruminal. Essa mudança das principais vias de biohidrogenação proporcionam a formação do CLA c18:2 trans-10 cis-12 a

partir do ácido linoleico, conhecido com o ácido graxo responsável pela depressão de gordura do leite (Bauman; Griinari, 2011; Souza et al., 2017).

Os dados obtidos neste experimento são semelhantes aos encontrados por (Caroprese et al., 2010), os quais observaram que o aumento da ingestão de C18:3 por vacas suplementadas com linhaça integral resultou em acréscimo dos ácidos graxos C18:1 trans-11 e CLA C18:2 cis-9 trans-11.

A maior parte dos CLA's formados no rúmen são biohidrogenados antes de chegar ao intestino, sendo que apenas 15% a 30% conseguem escapar da ação das bactérias ruminais. Há um escape considerável do ácido graxo moniinsaturado C18:1 trans-11, o qual é precursor do CLA C18:2 cis-9 trans-11 na glândula mamária através da ação da enzima delta-9-dessaturase (Marchi; Lima, 2021). O CLA C18:2 cis-9 trans-11 é predominante em ruminantes (Bauman e Griinari, 2001) e desperta interesse para o consumo humano, pois quando consumido como componente natural da dieta, através de produtos lácteos, apresenta potencial efeito anticangerígeno (Bauman et al., 2000).

Tabela 1- Médias dos quadrados mínimos, erro-padrão da média (EPM) e valores de P para produção, composição e análises físico-químicas do leite na estação de primavera

Variáveis	Tratamento		Período		EPM*		Valores de P	
	Controle	Óleo	1	2	Tratamento	Período	Tratamento*Período	
Produção de Leite (kg/dia)	22,3631	22,4643	23,3714	21,4560	1,4980	0,8497	0,0005	0,8287
¹ ECM	24,5552	24,1473	25,5229	23,1796	1,3066	0,6122	0,0051	0,6048
Gordura (%)	4,0296	3,9506	4,0585	3,9218	0,1106	0,6161	0,3927	0,8012
Gordura (kg/dia)	0,8960	0,8798	0,9406	0,8352	0,04546	0,6189	0,0021	0,5779
Proteína (%)	3,2978	3,1829	3,2232	3,2575	0,1320	0,0225	0,4851	0,7497
Proteína (kg/dia)	0,7288	0,7044	0,7431	0,6901	0,03538	0,3745	0,0571	0,3885
Relação Gordura: Proteína	1,2342	1,2539	1,2743	1,2138	0,03862	0,5268	0,0557	0,6733
Caseína (%)	2,8105	2,6777	2,7155	2,7727	0,1105	0,0007	0,1257	0,8251
Caseína (kg/dia)	0,6210	0,5935	0,6269	0,5876	0,03102	0,1913	0,0641	0,4583
Relação Caseína: Proteína	0,8561	0,8411	0,8463	0,8508	0,005400	<0,0001	0,0974	0,8889
Lactose (%)	4,5389	4,5295	4,4974	4,5710	0,06553	0,6728	0,0016	0,4611
Lactose (kg/dia)	1,0241	1,0209	1,0552	0,9898	0,07119	0,9259	0,0601	0,9023
Extrato seco desengordurado (%)	9,0033	8,8588	8,8784	8,9837	0,1220	0,0233	0,0944	0,9894
Extrato seco desengord. (kg/dia)	2,0147	1,9826	2,0686	1,9287	0,1170	0,6395	0,0455	0,7028
Extrato seco total (%)	13,0329	12,8094	12,9369	12,9054	0,2063	0,0346	0,7610	0,9276
Extrato seco total (kg/dia)	2,9107	2,8623	3,0091	2,7640	0,1601	0,6178	0,0141	0,6641
Acidez titulável (°D)	17,0286	17,1180	17,3293	16,8173	0,4782	0,6533	0,0126	0,8122
Teste de resistência ao Álcool (%)	75,0970	76,6133	75,4488	76,2615	1,4936	0,0111	0,1638	0,8125
Índice crioscópico (°C)	-0,5366	-0,5349	-0,5299	-0,5416	0,001383	0,2705	<0,0001	0,8497
Cloreto (%)	0,09269	0,08861	0,09562	0,08568	0,003313	0,0716	<0,0001	0,3908

* Erro-padrão da média;

¹Produção de leite corrigida para energia

Tabela 2 - Médias dos quadrados mínimos, erro-padrão da média (EPM) e valores de P para as variáveis fisiológicas de comportamento e metabolismo das vacas na estação primavera

Variáveis	Tratamento		Período		EPM*	Valores de p		
	Controle	Óleo	1	2		Tratamento	Período	Tratamento*Período
Escore de condição corporal	2,8750	2,7986	2,9028	2,7708	0,08556	0,0757	0,0029	0,4301
Glicose (mg/dL)	52,8333	50,2500	50,7500	52,3333	1,6048	0,1330	0,3514	0,2219
Beta-hidroxibutirato (mmol/L)	0,9833	0,9000	0,9167	0,9667	0,05114	0,1164	0,3398	0,2667
Frequência cardíaca da manhã (min)	77,7222	80,1667	80,6667	77,2222	1,6782	0,1027	0,0232	0,7695
Frequência cardíaca da tarde (min)	94,3056	88,1679	91,2778	91,1957	2,2392	0,0002	0,9574	0,5678
Frequência respiratória da manhã (min)	24,8889	25,5556	25,5556	24,8889	1,0000	0,4511	0,4511	0,2710
Frequência respiratória da tarde (min)	31,1111	31,0000	30,4444	31,6667	1,0740	0,9187	0,2648	0,5922
Temperatura corporal interna da manhã (°C)	38,0028	37,9083	37,8722	38,0389	0,1139	0,4567	0,1917	0,6210
Temperatura corporal interna da tarde (°C)	38,8722	38,6250	38,6111	38,8861	0,1307	0,0009	0,0002	0,1882
Atividade	654,30	668,36	675,83	646,84	20,1685	0,2926	0,0317	0,0168
Ruminação	546,58	544,32	547,49	543,42	17,6537	0,8361	0,7093	0,2718

* Erro-padrão da média

Tabela 3 - Médias dos quadrados mínimos, erro-padrão da média (EPM) e valores de P para produção, composição e análises físico-químicas do leite na estação de verão

Variáveis	Tratamento		Período		EPM*	Valores de P		
	Controle	Óleo	1	2		Tratamento	Período	Tratamento*Período
Produção de Leite (kg/dia)	18,6671	19,7629	19,7457	18,6843	1,1185	0,0512	0,0587	0,4122
¹ ECM	19,6512	20,7223	20,3684	20,0051	1,0174	0,1259	0,5988	0,3796
Gordura (%)	3,7982	3,5768	3,6512	3,7238	0,1289	0,0169	0,4182	0,8068
Gordura (kg/dia)	0,7016	0,7217	0,7193	0,7040	0,03901	0,4726	0,5838	0,3621
Proteína (%)	3,1590	3,1099	3,0336	3,2553	0,08817	0,1619	<0,0001	0,8921
Proteína (kg/dia)	0,5826	0,6229	0,5957	0,6099	0,02527	0,0405	0,4617	0,4138
Relação Gordura: Proteína	1,2038	1,1538	1,2056	1,1520	0,02395	0,0911	0,0708	0,3921
Caseína (%)	2,5324	2,4301	2,4282	2,5343	0,07556	0,0241	0,0133	0,5740
Caseína (kg/dia)	0,4774	0,4875	0,4881	0,4768	0,02120	0,3608	0,2749	0,8547
Relação Caseína: Proteína	0,8105	0,7855	0,8126	0,7835	0,008489	0,0233	0,0061	0,0828
Lactose (%)	4,4689	4,4703	4,5156	4,4236	0,06848	0,9850	0,2017	0,8464
Lactose (kg/dia)	0,4774	0,4875	0,4881	0,4768	0,02120	0,3608	0,2749	0,8547
Extrato seco desengordurado (%)	8,7231	8,8803	8,8698	8,7336	0,1428	0,3264	0,3943	0,4457
Extrato seco desengord. (kg/dia)	1,6186	1,7943	1,7589	1,6540	0,08967	0,0256	0,1739	0,2838
Extrato seco total (%)	12,5183	12,4571	12,5210	12,4544	0,2420	0,7637	0,7436	0,5893
Extrato seco total (kg/dia)	2,3206	2,5160	2,4782	2,3584	0,1253	0,0596	0,2416	0,2936
Acidez titulável (°D)	16,6327	17,3638	16,8167	17,1797	0,5839	0,0295	0,2690	0,2218
Teste de resistência ao Álcool (%)	69,2987	72,0367	70,0199	71,3156	1,1707	0,0013	0,1087	0,4095
Índice crioscópico (°C)	-0,5386	-0,5380	-0,5397	-0,5369	0,001092	0,5343	0,0117	0,0863
Cloreto (%)	0,09417	0,08755	0,08936	0,09236	0,005188	0,0082	0,2167	0,2445

* Erro-padrão da média;

¹Produção de leite corrigida para energia;

Tabela 4 - Médias dos quadrados mínimos, erro-padrão da média (EPM) e valores de P para as variáveis fisiológicas de comportamento e metabolismo das vacas na estação de verão

Variáveis	Tratamento		Período		EPM*	Valores de P		
	Controle	Óleo	1	2		Tratamento	Período	Tratamento*Período
Escore de condição corporal	2,6917	2,6667	2,6333	2,7250	0,07691	0,6413	0,0930	0,5289
Glicose (mg/dL)	56,2000	54,0000	54,5000	55,7000	1,5843	0,3408	0,5996	0,0672
Beta-hidroxibutirato (mmol/L)	0,7600	0,7000	0,8400	0,6200	0,04610	0,3711	0,0039	0,7630
Frequência cardíaca da manhã (min)	75,6667	77,6000	72,7333	80,5333	1,9386	0,1523	<0,0001	0,9276
Frequência cardíaca da tarde (min)	90,0000	89,7333	88,1333	91,6000	2,5590	0,8760	0,0479	0,2314
Frequência respiratória da manhã (min)	24,5333	25,3333	26,2667	23,6000	0,5772	0,2694	0,0006	0,5598
Frequência respiratória da tarde (min)	36,1333	35,0667	40,8000	30,4000	1,1563	0,4402	<0,0001	0,0938
Temperatura corporal interna da manhã (°C)	38,2915	38,2260	38,0825	38,4350	0,06735	0,4586	0,0005	0,6011
Temperatura corporal interna da tarde (°C)	39,4765	39,4115	39,9695	38,9185	0,1586	0,7013	<0,0001	0,9065
Atividade	747,89	764,27	798,89	713,27	37,9914	0,3291	<0,0001	0,6712
Ruminação	504,07	519,39	478,33	545,13	13,3250	0,0176	<0,0001	0,1051

* Erro-padrão da média;

Tabela 5- Análise conjunta entre experimentos para produção, composição e análises fisico-químicas de leite

Variáveis	Análise conjunta		Experimento				Valores de P		
			Primavera		Verão		Experimento	Tratamento*Experimento	
	Controle	Óleo	Controle	Óleo	Controle	Óleo			
Produção de Leite (kg/dia)	20,2601	20,7846	23,3024	22,8092	17,2178	18,7600	0,3960	<0,0001	0,0658
¹ ECM	21,7254	21,9383	24,6928	23,7733	18,7580	20,1032	0,7315	<0,0001	0,0451
Gordura (%)	3,9329	3,7791	3,9030	3,8147	3,9627	3,7434	0,0075	0,9377	0,2256
Gordura (kg/dia)	0,7819	0,7815	0,8915	0,8600	0,6724	0,7030	0,9856	<0,0001	0,1475
Proteína (%)	3,2917	3,2069	3,1725	3,0442	3,4110	3,3696	0,0122	<0,0001	0,1752
Proteína (kg/dia)	0,6534	0,6573	0,7284	0,6886	0,5784	0,6260	0,8382	<0,0001	0,0137
Relação Gordura: Proteína	1,2025	1,1887	1,2298	1,2531	1,1753	1,1242	0,5325	0,0006	0,0773
Caseína (%)	2,7239	2,6068	2,7036	2,5663	2,7441	2,6473	0,0004	0,2026	0,5211
Caseína (kg/dia)	0,5465	0,5368	0,6190	0,5852	0,4740	0,4884	0,5054	<0,0001	0,0872
Relação Caseína: Proteína	0,8318	0,84142	0,8526	0,8417	0,8110	0,7868	0,0001	<0,0001	0,1359
Lactose (%)	4,4817	4,4746	4,5588	4,5477	4,4046	4,4015	0,8377	0,0008	0,9024
Lactose (kg/dia)	0,9037	0,9304	1,0596	1,0316	0,7479	0,8291	0,3902	<0,0001	0,0445
Extrato seco desengordurado (%)	8,9047	8,9152	8,9509	8,8046	8,8586	9,0259	0,8938	0,5186	0,0408
Extrato seco desengordurado (kg/dia)	1,7876	1,8495	2,0548	1,9826	1,5203	1,7165	0,2869	<0,0001	0,0103
Extrato seco total (%)	12,8422	12,7018	12,8298	12,5913	12,8546	12,8124	0,1674	0,3482	0,3047
Extrato seco total (kg/dia)	2,5707	2,6292	2,9465	2,8331	2,1949	2,4253	0,4622	<0,0001	0,0157
Acidez titulável (°D)	17,0959	17,5080	17,2367	17,3109	16,9550	17,7051	0,0308	0,8384	0,0707
Teste de resistência ao álcool (%)	71,7589	73,9100	76,6103	78,1569	66,9075	69,6630	<0,0001	<0,0001	0,1840
Índice crioscópico (°C)	-0,5374	-0,5362	-0,5360	-0,5343	-0,5388	-0,5381	0,2129	0,0041	0,5832
Cloreto (%)	0,09401	0,08866	0,09077	0,08669	0,09725	0,09062	0,0005	0,0237	0,3957

¹Produção de leite corrigida para energia;

Tabela 6- Análise conjunta entre experimentos para as variáveis fisiológicas de comportamento e metabolismo das vacas

Variáveis	Tratamento		Experimento				Valores de P		
			Primavera		Verão		Tratamento	Experimento	Tratamento*Experimento
	Controle	Óleo	Controle	Óleo	Controle	Óleo			
Escore de condição corporal	2,8266	2,7720	2,8140	2,7268	2,8392	2,8173	0,1311	0,1377	0,2897
Glicose (mg/dL)	54,6458	52,2542	52,6888	50,1055	56,6028	54,4028	0,1247	0,0193	0,9008
Beta-hidroxibutirato (mmol/L)	0,8659	0,7942	0,9824	0,8990	0,7493	0,6893	0,1442	0,0003	0,8099
Frequência cardíaca da manhã (min)	76,6319	78,8850	78,3434	80,7566	74,9204	77,0133	0,0464	0,0104	0,8814
Frequência cardíaca da tarde (min)	92,0679	88,7666	96,0246	89,8456	88,1112	87,6876	0,0030	0,0019	0,0097
Frequência respiratória da manhã (min)	24,9937	25,7491	24,4853	25,1831	25,5021	26,3151	0,2395	0,1738	0,9272
Frequência respiratória da tarde (min)	33,8527	33,2532	31,2932	31,1171	36,4123	35,3892	0,4375	<0,0001	0,5868
Temperatura corporal interna da manhã (°C)	38,1853	38,0963	38,0040	37,9379	38,3666	38,2548	0,2899	<0,0001	0,7634
Temperatura corporal interna da tarde (°C)	39,1403	38,9859	38,9183	38,6739	39,3624	39,2978	0,0265	<0,0001	0,1958
Atividade	642,59	660,03	571,00	606,95	714,17	713,12	0,4118	<0,0001	0,3964
Ruminação	460,19	481,75	442,59	459,04	477,79	504,47	0,0284	0,0033	0,6085

Tabela 7- Médias dos quadrados mínimos, erro-padrão da média (EPM) e valores de P para o perfil de ácidos graxos do leite no experimento de primavera

Variáveis	Tratamento		Período		EPM*	Valores de P		
	Controle	Óleo	1	2		Tratamento	Período	Tratamento*Período
C4:0	0,9444	1,0435	0,9950	0,9929	0,05547	0,0401	0,9626	0,2601
C6:0	0,9773	0,9976	1,0060	0,9690	0,05726	0,7005	0,4875	0,3382
C8:0	0,7111	0,6890	0,7435	0,6567	0,03516	0,5626	0,0403	0,5555
C10:0	2,2101	2,0497	2,3290	1,9308	0,1161	0,2792	0,0176	0,6957
C12:0	3,5167	3,1536	3,7167	2,9536	0,1752	0,1319	0,0062	0,6799
C13:0	0,1049	0,1007	0,1101	0,09551	0,005929	0,6011	0,0887	0,6385
C14:1	0,8183	0,6731	0,8619	0,6295	0,07278	0,1242	0,0229	0,4061
C15:0	1,5343	1,3107	1,3940	1,4510	0,06593	0,0067	0,4053	0,4842
C16:1	1,8085	1,6059	1,7843	1,6301	0,08026	0,0098	0,0360	0,6416
C17:0	0,7465	0,6278	0,6799	0,6943	0,01300	<0,0001	0,4293	0,0264
C17:1	0,2893	0,2458	0,2618	0,2733	0,01245	0,0067	0,3891	0,1350
C18:1 trans	2,6752	4,0523	3,1109	3,6166	0,2366	0,0021	0,1617	0,6963
C18:1 cis	17,0957	19,7097	17,3606	19,4447	0,5690	0,0087	0,0270	0,2896
C18:2 cis	0,8138	0,9116	0,9004	0,8250	0,06501	0,3128	0,4317	0,0901
C18:2 n6 cis-9 trans-12	0,1055	0,1203	0,1285	0,09730	0,03143	0,7341	0,4785	0,3441
CLA C18:2 cis-9 trans-11	0,5319	0,7214	0,6064	0,6469	0,05112	0,0090	0,5054	0,7851
CLA C18:2 trans-10 cis-12	0,03501	0,03267	0,03907	0,02861	0,008762	0,8537	0,4187	0,3783
C18:3 n3	0,4311	0,7273	0,6027	0,5556	0,04889	0,0016	0,5115	0,0238
C20:0	0,1165	0,06314	0,09546	0,08419	0,03051	0,2422	0,7983	0,4330
C20:3 n6	0,03244	0,02528	0,03097	0,02676	0,002475	0,0447	0,2077	0,1574
C20:4	0,03672	0,03117	0,03841	0,02948	0,002533	0,1228	0,0219	0,4019
C22:0	0,006516	0,01001	0,01018	0,006348	0,002742	0,3883	0,3462	0,6586

* Erro-padrão da média;

Tabela 8 – Médias dos quadrados mínimos, erro-padrão da média (EPM) e valores de P para o perfil de ácidos graxos do leite no experimento de verão

Variáveis	Tratamento		Período		EPM*	Valores de P		
	Controle	Óleo	1	2		Tratamento	Período	Tratamento*Período
C4:0	1,0244	1,0962	0,9001	1,2206	0,09268	0,5765	0,0317	0,6247
C6:0	0,8408	0,8226	0,7152	0,9481	0,05091	0,8030	0,0107	0,5730
C8:0	0,5925	0,5339	0,5061	0,6203	0,02501	0,1270	0,0105	0,9362
C10:0	1,6346	1,3399	1,3751	1,5994	0,06744	0,0140	0,0444	0,6334
C12:0	2,4809	1,8587	1,9727	2,3670	0,1854	0,0450	0,1710	0,4684
C13:0	0,06282	0,06228	0,05426	0,07084	0,004714	0,9382	0,0377	0,9808
C14:1	0,8337	0,7197	0,6696	0,8837	0,09248	0,3361	0,0907	0,7201
C15:0	1,3542	1,2285	1,3901	1,1926	0,04681	0,0289	0,0031	0,4106
C16:1	2,1729	1,7745	2,0939	1,8535	0,1110	0,0018	0,0247	0,6010
C17:0	0,8324	0,6792	0,8291	0,6825	0,02746	0,0003	0,0004	0,4013
C17:1	0,1932	0,1529	0,1913	0,1548	0,01245	0,0202	0,0309	0,0729
C18:1 trans	1,5017	3,4293	1,8270	3,1040	0,6849	0,0818	0,2238	0,6451
C18:1 cis	24,7491	28,1813	27,8179	25,1125	0,7416	0,0113	0,0326	0,0627
C18:2 cis	1,0048	1,0909	1,1596	0,9361	0,05197	0,0542	0,0004	0,1540
C18:2 n6 cis-9 trans-12	0,08611	0,1839	0,1449	0,1250	0,02133	0,0067	0,4814	0,2352
CLA C18:2 cis-9 trans-11	0,6881	1,0373	0,8466	0,8787	0,05397	0,0018	0,6851	0,1056
CLA C18:2 trans-10 cis-12	0,03039	0,06193	0,05246	0,03986	0,009455	0,0355	0,3426	0,2534
C18:3 n3	0,3384	0,4478	0,3961	0,3900	0,02020	0,0007	0,7752	0,1025
C20:0	0,1203	0,1193	0,1370	0,1026	0,006856	0,9197	0,0076	0,2787
C20:3 n6	0,01116	0,004000	0,01516	0	0,001781	0,0218	0,0003	0,0218
C20:4	0,02215	0,01211	0,03425	0	0,003075	0,0498	<0,0001	0,0498
C22:0	0,03851	0,03725	0,06157	0,01420	0,004306	0,8411	<0,0001	0,1526

* Erro-padrão da média;

Tabela 9- Média dos valores mínimo, médio e máximo para temperatura do ar (°C), umidade relativa do ar (%) e índice de temperatura e umidade durante os dias de avaliação

Variáveis	Mínimo				Média				Máximo			
	primavera		verão		primavera		verão		primavera		verão	
	período 1	período 2										
¹ T (°C)	13,36	13,89	17,98	14,24	15,09	17,63	21,11	16,69	16,96	22,59	27,55	19,49
² UR (%)	87,74	67,45	69,18	83,32	93,24	82,43	88,48	91,30	97,81	93,93	98,34	97,33
³ ITU	56,08	57,06	64,12	57,65	59,10	62,89	68,97	61,78	62,29	69,93	77,45	66,19

¹T: temperatura do ar (°C);

²UR: Umidade relativa do ar (%);

³ITU: Índice de temperatura e umidade;

Tabela 10 – Perfil de ácidos graxos dos alimentos

Variáveis	Óleo de linhaça		Pastagem				Farelo de milho			Farelo de soja
	primavera ¹ exp. 1	verão ¹ exp. 2	primavera		verão		primavera ² per. 1	verão ² per. 2	verão ² per. 1 e 2	verão ² per. 1 e 2
			² per. 1	² per. 2	² per. 1	² per. 2				
Teor de gordura (%)			4,16	3,57	3,75	5,09	3,40	2,98	3,29	2,25
Ácidos Graxos (% da gordura):							0,02	0,02		
C 10:0							0,10	0,08		
C 12:0					2,77	1,86				
C 13:0					1,47	1,31				
C 14:0	0,07	0,05	2,16	2,17	0,98	0,48	0,27	0,23	0,06	0,13
C 14:1			0,04	0,05						
C 15:0			0,02	0,37	0,40	0,25	0,15	0,05	0,07	0,02
C 16:0	8,77	8,28	29,58	30,63	33,42	28,20	23,58	23,66	15,35	21,9
C 16:1	0,10	0,07			0,36	0,42	0,32	0,37	0,12	0,1
C 17:0	0,08	0,05			0,27	0,17	0,11	0,11	0,1	0,13
C 17:1	0,05								0,03	0,03
C 18:0	5,35	5,23	1,8	2,19	3,01	1,45	2,26	1,82	1,8	4,57
C 18:1 cis	24,67	25,20	2,27	3,49	4,21	2,36	29,49	26,87	35,01	16,91
C 18:2 cis	14,37	14,73	12,58	14,42	13,25	9,46	42,54	45,56	45,61	49,67
C 18:3 n3	46,05	45,89	50,85	46,33	38,75	29,10	1,17	1,17	1,13	5,68
C 18:3 n6	0,17	0,11	0,24	0,21						0,02
C 20:0	0,13	0,13			0,26	0,24			0,45	0,21
C 20:2		0,03								0,04
C 20:3 n6 + C 22:0	0,06									
C 20:4	0,04		0,11	0,10			0,02			
C 20:5										
C 21:0										0,03
C 22:0		0,13			0,48	0,21	0,04	0,03	0,14	0,29
C 22:2	0,02									0,09
C 23:0										
C 24:0	0,07	0,07			0,52	0,24	0,06		0,19	0,16

¹exp: experimento;²per: período;

6. CONCLUSÃO

A suplementação com óleo de linhaça melhora a produção de leite em condições de verão, com maior tempo de ruminação, indicando maior capacidade de consumo e melhor adaptação das vacas ao calor, evidenciada pela menor frequência cardíaca e temperatura corporal interna no período da tarde.

A suplementação com óleo de linhaça melhora as propriedades nutricionais do leite através da sua capacidade em modular o perfil de ácidos graxos e aumentar os níveis de ácidos graxos benéficos à saúde humana, tais como CLA C18:2 cis-9 trans-11, C 18:2 n-6 e C18:3 n-3.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, A. S. D. Fatores nutricionais e não nutricionais que afetam a composição do leite bovino. **Ekp**, v. 13, n. 3, p. 1576–1580, 2015.
- AULDIST, M. J. et al. Effects of different strategies for feeding supplements on milk production responses in cows grazing a restricted pasture allowance. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 2, p. 1218–1231, 2013.
- ARRIGONI, M.D.B. et al. Níveis Elevados de Concentrado na Dieta de Bovinos em Confinamento. **Veterinária e Zootecnia**, v. 1, n. 4, p. 1689–1699, 2015.
- AZEVÊDO, D. M. M. R.; ALVES, A. A. Bioclimatologia Aplicada à Bovinocultura Leiteira. **Embrapa**, p. 83, 2009.
- AYOADE, J. O. **Introdução à climatologia para os trópicos**. 4^a Ed. Rio de Janeiro: Bertrand Brasil, cap.11, p 224-260, 1996.
- BAPTISTA, R. DE C. et al. **Propriedades Funcionais E Fisiológicas Da Linhaça**. [s.l: s.n.].
- BAUMAN, D. E. et al. Technical note: Production of butter with enhanced conjugated linoleic acid for use in biomedical studies with animal models. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 11, p. 2422–2425, 2000.
- BAUMAN, D. E. et al. Regulation of fat synthesis by conjugated linoleic acid: Lactation and the ruminant model. **Journal of Nutrition**, v. 138, n. 2, p. 403–409, 2008.
- BAUMAN, D. E.; HARVATINE, K. J.; LOCK, A. L. Nutrigenomics, rumen-derived bioactive fatty acids, and the regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, v. 31, p. 299–319, 2011.
- BAUMGARD, L. H. et al. Effects of heat stress on the immune system, metabolism and nutrient partitioning: implications on reproductive success. **Rev. Bras. Reprod. Anim**, v. 39, n. 1, p. 173–183, 2015.
- BECKER, C. A.; COLLIER, R. J.; STONE, A. E. Invited review: Physiological and behavioral effects of heat stress in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 8, p. 6751–6770, 2020.
- BENCHAAAR, C.; POMAR, C.; CHIQUETTE, J. Evaluation of dietary strategies to reduce methane production in ruminants: A modelling approach. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 81, n. 4, p. 563–574, 2001.
- BERNABUCCI, U. et al. Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants. **Animal**, v. 4, n. 7, p. 1167–1183, 2010.
- BERCHIELLI, T. T., et al. **Nutrição de Ruminantes. Aspectos nutricionais relacionados à reprodução**. 2^a edição, Jaboticabal, c.17, p. 549-553, 2011.
- BERTOCCHI, L. et al. Seasonal variations in the composition of Holstein cow's milk and temperature-humidity index relationship. **Animal**, v. 8, n. 4, p. 667–674, 2014.
- BIAVATTI, H. A. Z.; BERBER, G. C. M.; BERBER, R. C. A. Produção de Leite em Sistemas Integrados. **Scientific Electronic Archives**, n. 7, p. 1–16, 2014.
- BLIGH, E.G. AND DYER, W. J. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, 1959.
- BOURAQUI, R. et al. The relationship of temperature-humidity with milk production of dairy cows in a Mediterranean climate. **Anim. Res.**, 51, pp. 479 – 491, 2002.
- BORBUREMA, J.B., SOUZA, B.B., CEZAR, M.F., FILHO, J.M.P. Influência de fatores ambientais sobre a produção e composição físico-química do leite. ACSA – **Agropecuária Científica no Semiárido**, V. 9, n. 4, p. 15 - 19, 2013.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Pesquisa de cloretos em

leite fluido por colorimetria. **Diário Oficial da União**, 2013.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, P. E A. Instrução Normativa Nº 76, de 26 de novembro de 2018. Regulamentos Técnicos para fixação da qualidade e identidade do leite cru refrigerado, leite pasteurizado e leite pasteurizado tipo A. **Diário Oficial da União**, p. 1-4, 2018.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução normativa nº 77, de 26 de novembro de 2018. **Diário Oficial da União**, v. 230, n. 1, p. 9-13, 2018.

BUTTCHEREIT, N. et al. Evaluation of five lactation curve models fitted for fat:protein ratio of milk and daily energy balance. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 4, p. 1702-1712, 2010.

CALDER, P. C. Mechanisms of Action of (n-3) Fatty Acids 1 , 2. 2012.

CARDOZO, L. et al. Estabilidade oxidativa e perfil de ácidos graxos do leite de vacas suplementadas com óleo de linhaça na dieta associado ou não ao selenito de sódio injetável. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 3, p. 826-832, 2013.

CAROPRESE, M. et al. Flaxseed supplementation improves fatty acid profile of cow milk. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 6, p. 2580-2588, jun. 2010.

CHILLIARD, Y. et al. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 5, p. 1751-1770, 2003.

CHILLIARD, Y. et al. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, n. 8, p. 828-855, 2007.

COSTA, R. G.; QUEIROGA, R. D. C. R. E.; PEREIRA, R. A. G. Influência do alimento na produção e qualidade do leite de cabra. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. SUPPL. 1, p. 307-321, 2009.

CURTIS, A. K. et al. Relationships between ambient conditions, thermal status, and feed intake of cattle during summer heat stress with access to shade. **Journal of Thermal Biology**, v. 63, n. December 2016, p. 104-111, 2017.

DOREAU, M.; FERLAY, A. LIN ET CHANVRE Flax and hemp Linseed: a valuable feedstuff for ruminants. **Oilseeds & fats Crops and Lipids**, v. 22, n. 6, p. 1-9, 2015.

DREWNOWSKI, A. The contribution of milk and milk products to micronutrient density and affordability of the U.S. Diet. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 30, n. August 2014, p. 422S-428S, 2011.

DUFFIELD, T.F. et al. Efficacy of monensin for the prevention of subclinical ketosis in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.2866-2873, 1998.

ELISCHER, M. F. et al. Validating the accuracy of activity and rumination monitor data from dairy cows housed in a pasture-based automatic milking system. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 10, p. 6412-6422, 2013.

EMBRAPA - **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Modificações ambientais para reduzir o estresse calórico em gado leiteiro. Juiz de Fora - MG, 2004.

EMBRAPA - **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, Gado de Leite. 2019. Disponível em: . EMBRAPA. Centro de Inteligência do Leite – CILEite. Índice de Custos de Produção de Leite – ICPL, 2021.

FAGNANI, B. et al. Universidade Federal Rural do Semi-Árido. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 4, p. 208-215, 2014.

FANCHONE, A. et al. Effects of Nitrogen Underfeeding and Energy Source on Nitrogen Ruminal Metabolism, Digestion, and Nitrogen Partitioning in Dairy Cows. **Journal of Animal Science**, v. 91, n. 2, p. 895-906, 2013.

FAO – **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Dairy Market Review: Emerging trends and outlook 2022. Rome, 2022.

- FAROOQ, U. et al. Physiological responses of cattle to heat stress. **World Applied Sciences Journal**, v. 8, p. 38– 43, 2010.
- FERGUSON, J. D.; GALLIGAN, D. T.; THOMSEN, N. Principal Descriptors of Body Condition Score in Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 9, p. 2695–2703, 1994.
- FOX, P. F. Chemistry And Biochemistry. In: **Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis**. [s.l: s.n.]. p. 1–1.
- GAO, S. T. et al. The effects of heat stress on protein metabolism in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 6, p. 5040–5049, 2017.
- GARGOURI, A.; HAMED, H.; ELFEKI, A. Analysis of raw milk quality at reception and during cold storage: Combined effects of somatic cell counts and psychrotrophic bacteria on lipolysis. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 9, p. 1405–1411, 2013.
- GAULY, M. et al. Future consequences and challenges for dairy cow production systems arising from climate change in Central Europe - A review. **Animal**, v. 7, n. 5, p. 843–859, 2013.
- GLASSER, F.; FERLAY, A.; CHILLIARD, Y. Oilseed lipid supplements and fatty acid composition of cow milk: A meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 12, p. 4687–4703, 2008.
- GHENO, G. C. Efeitos da suplementação com óleo de linhaça sobre a produção, qualidade do leite e aspectos fisiológicos de vacas em pastejo na primavera e verão. 2023. P. 58. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal – Área: Produção Animal). Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Lages, 2023.
- HAHN, G. L.; MADER, T. L.; EIGENBERG, R. A. Perspective on development of thermal indices for animal studies and management. In: LACETERA, N. et al. (Ed.). Interactions between climate and animal production. EAAP Technical Series. **The Netherlands: Wageningen Academic Publishers**, 2003. p. 31–44.
- HARTMAN, L. & LAGO, R.C.A. - Rapid preparation of fatty acid methylesters from lipids. **Journal Laboratory Practice**, 22:475-6, 94, 1973.
- HARVATINE, K. J.; BOISCLAIR, Y. R.; BAUMAN, D. E. Liver × receptors stimulate lipogenesis in bovine mammary epithelial cell culture but do not appear to be involved in diet-induced milk fat depression in cows. **Physiological Reports**, v. 2, n. 3, p. 1–13, 2014.
- HECK, J. M. L. et al. Seasonal variation in the Dutch bovine raw milk composition. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 10, p. 4745–4755, 2009.
- HILLS, J. L. et al. Invited review: An evaluation of the likely effects of individualized feeding of concentrate supplements to pasture-based dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 3, p. 1363–1401, 2015.
- JAMALI, H. et al. Invited review: Incidence, risk factors, and effects of clinical mastitis recurrence in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 6, p. 4729–4746, 2018.
- KAJLA, P.; SHARMA, A.; SOOD, D. R. Flaxseed — a potential functional food source. 2014.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. Clinical biochemistry of domestic animals. 6 ed. San Diego: Academic, 2008.
- KAPPES, R. Comportamento ingestivo, atividade, produção e qualidade do leite de vacas holandês e mestiças holandês x jersey em sistema baseado em pastagem. p. 1–88, 2020.
- KAPPES, R. et al. Evaluation of an electronic system for monitoring dairy cow rumination in a grazing-based system. **Tropical Animal Health and Production**, v. 53, n. 3, p. 1–6, 2021.
- KAPPES, R. et al. Rumination time, activity index, and productive performance of Holstein and crossbred

Holstein x jersey cows exposed to different temperature-humidity indexes. **International Journal of Biometeorology**, v. 66, n. 4, p. 791–801, 2022.

KARVATTE, N. et al. Shading effect on microclimate and thermal comfort indexes in integrated crop-livestock-forest systems in the Brazilian Midwest. **International Journal of Biometeorology**, v. 60, n. 12, p. 1933–1941, 2016.

KENNELY, J. J. The fatty acid composition of milk fat as influenced by feeding oilseeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 60, p.137-152, 1996.

KLIEM, K. E.; SHINGFIELD, K. J. Manipulation of milk fatty acid composition in lactating cows: Opportunities and challenges. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 118, n. 11, p. 1661–1683, 2016.

KNOB, D. A. et al. Dry matter intake, body condition score, beta-hydroxy-butyrate, milk yield, and composition of Holstein and crossbred Holstein x Simmental cows during the transition period. **Journal of Applied Animal Research**, v. 49, n. 1, p. 6–14, 2021.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos Ruminantes**. 3^a ed. revisada e ampliada, Editora UFSM, 2019.

LACETERA, N. et al. **Body condition score, metabolic status and milk production of early lactating dairy cows exposed to warm environment**. Riv. Agric. Subtrop. Trop.,90, pp.43-55, 1996. In: NARDONE, A. et al. Effects of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems. **Livestock Science**, v. 130, n. 1–3, p. 57–69, 2010.

LAGO, E. P. et al. Metabolic profiles during the pospartum transition period in dairy cows. **R. Bras. Ci. Vet.**, v. 11, n. 1, p. 98–103, 2004.

LINDMARK-MÅNSSON, H.; ÅKESSON, B. Antioxidative factors in milk. **British Journal of Nutrition**, v. 84, n. SUPPL. 1, 2000.

MADER, T. L.; DAVIS, M. S.; BROWN-BRANDL, T. DigitalCommons @ University of Nebraska - Lincoln Environmental Factors Influencing Heat Stress in Feedlot Cattle. 2006.

MAPATO, C.; WANAPAT, M.; CHERDTHONG, A. Effects of urea treatment of straw and dietary level of vegetable oil on lactating dairy cows. **Tropical Animal Health and Production**, v. 42, n. 8, p. 1635–1642, 2010.

MÁRIO DE BENI ARRIGONI et al. Níveis Elevados de Concentrado na Dieta de Bovinos em Confinamento. **Veterinária e Zootecnia**, v. 1, n. 4, p. 1689–1699, 2015.

MARCHI, F. E. D.; LIMA, L. S. D. Efeitos da linhaça sobre os compostos bioativos do leite bovino. In: **Linhaça:perspectiva de produção e usos na alimentação humana e animal**. cap.6, p.122-139, 2021.

MARTIN, C. et al. Increasing linseed supply in dairy cow diets based on hay or corn silage: Effect on enteric methane emission, rumen microbial fermentation, and digestion. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 5, p. 3445–3456, 2016.

MEDEIROS, S.R. DE; ALBERTINI, T.Z.; MARINO, C.T. **Nutrição de Bovinos de Corte: Fundamentos e Aplicações**, 1^a ed. Embrapa, Brasília, DF, c.5, p.63-73, 2015.

MENDES, C. D. G. et al. Análises Físico-Químicas E De Fraude Do Leite Informal Comercializado No Município De Mossoró-Rn. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 2, p. 349–356, 2010.

MESSANA, J. D. et al. Efeito de teores de lipídeos sobre a população de protozoários, síntese de proteína microbiana e a degradação ruminal em bovinos. **Acta Scientiarum - Animal Sciences**, v. 34, n. 3, p. 279–285, 2012.

MORETTI, R. et al. Heat stress effects on Holstein dairy cows' rumination. **Animal**, v. 11, n. 12, p. 2320–2325, 2017.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 7^a.ed. Washinton, **National Academy Press**, 381p, 2001.

NARDONE, A. et al. Effects of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems. **Livestock Science**, v. 130, n. 1–3, p. 57–69, 2010.

NEGUSIE, E.; STRANDÉN, I.; MÄNTYSAARI, E. A. Genetic associations of test-day fat: Protein ratio with milk yield, fertility, and udder health traits in Nordic Red cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 2, p. 1237–1250, 2013.

NORDLUND, K. V. et al. Thermodynamics of standing and lying behavior in lactating dairy cows in freestall and parlor holding pens during conditions of heat stress. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 7, p. 6495–6507, 2019.

OLANIYAN, O. F.; KAYA, İ.; SECKA, A. Assessment of composition and physical properties of the Gambian N'Dama cow milk. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 115, n. October 2022, 2023.

OLIVEIRA, J. A., CARUSO, B. G. J. Leite- características, composição química, propriedades, obtenção higiênica, conservação e tratamento. In: DE CAMARGO, R. et al. **Tecnologia dos produtos agropecuários-alimentos**, 1. ed. Piracicaba: Nobel. p. 191. 1989.

OSORIO, J. S.; LOHAKARE, J.; BIONAZ, M. **Biosynthesis of milk fat, protein, and lactose: Roles of transcriptional and posttranscriptional regulation**. *Physiological Genomics*, 2016.

OSPINAS, P. A. et al. Associations of elevated nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 4, p. 1596–1603, 2010.

PARIKH, M. et al. Nutrients, Vol. 11, Pages 1171: Dietary Flaxseed as a Strategy for Improving Human Health. **Nutrients**, v. 11, n. 1171, p. 1–15, 2019.

PETIT, H. V. Review : Feed intake , milk production and milk composition of dairy cows fed flaxseed. n. 1032, 2010.

PILATTI, J. A. O comportamento diurno e bem-estar de vacas em sistema de confinamento Compost Barn. **Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Dois Vizinhos**, p. 150, 2017.

PINHEIRO, M. G. Produção de leite em ambiente tropical. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 9, n. 1, 2012.

PIRES, M. de F. A.; VILELA, D.; VERNEQUE, R. da S.; TEODORO, R. L. Reflexos do estresse térmico no comportamento das vacas em lactação. In: **Simpósio brasileiro de ambiência na produção de leite**, 1., 1998, Piracicaba. Produção de leite em clima quente: anais. Piracicaba: FEALQ, p. 68-102, 1998.

PONCHEKI, J. K. Beta-Hidroxibutirato E Perfil De Ácidos Graxos Do Leite Bovino No Início Da Lactação: Efeitos Sobre Produção, Reprodução E Sanidade. p. 112, 2019.

RAIMONDO, R. F. S. et al. Teores de cloretos, lactose e índice cloretos/lactose na secreção láctea de bovinos da raça Jersey no primeiro mês da lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 61, n. 1, p. 259–265, 2009.

RAVAGNOLO, O.; MISZTAL, I.; HOOGENBOOM, G. Genetic component of heat stress in dairy cattle, development of heat index function. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 9, p. 2120–2125, 2000.

RHOADS, M. L. et al. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 5, p. 1986–1997, 2009.

SALTER, A. M. Dietary fatty acids and cardiovascular disease. **Animal, The International Journal of Animal Biosciences**, v. 7, p. 163–171, 2013.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. Manejo de ambiente e conforto de vacas leiteiras. Livro: **Controle de mastite e qualidade do leite. Desafios e soluções**, 1^ªed, c.20, p.262-279, Pirassununga-SP, 2019.

SHARIFI, M. et al. Effects of fat supplementation and chop length on milk composition and ruminal fermentation of cows fed diets containing alfalfa silage. **Iranian Journal of Applied Animal Science**, v. 6, n. 2, p. 293–301, 2016.

SINGH, K. K. et al. Flaxseed: A potential source of food, feed and fiber. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, n. 3, p. 210–222, 2011.

SMITH, W.A. Fats for lactations dairy cows. In: CONGRESS OF THE SOUTH AFRICA SOCIETY AND ANIMAL PRODUCTION, 29., 1990, Stellenbosch. Proceedings... Stellenbosch: **Animal production**, University of Stellenbosch, p.1-10, 1990.

SOUZA, C. G. DE et al. Teorias sobre a síndrome da baixa gordura no leite de vacas. 2017.

TACOMA, R. et al. Characterization of the bovine milk proteome in early-lactation Holstein and Jersey breeds of dairy cows. **Journal of Proteomics**, v. 130, p. 200–210, 2016.

TAO, S. et al. Symposium review: The influences of heat stress on bovine mammary gland function1. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 6, p. 5642–5654, 2018.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS (TBCA). Universidade de São Paulo (USP). **Food Research Center** (FoRC). Versão 7.1. São Paulo, 2020. [Acesso em: 14/01/2021]. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tbca>.

THALER NETO, A. et al. Pontos Críticos Da Qualidade Do Leite. **Anais do IV Simpósio Nacional Da Vaca Leiteira** – Porto Alegre, v. 24, n. 2, p. 246–255, 2017.

TOLENTINO, R. G. et al. Composition of Triacylglycerols in Fats of Cow and Goat Milk Produced in Four Zones of Mexico. n. April, p. 555–561, 2015.

VIZZOTTO, E. F. et al. Access to shade changes behavioral and physiological attributes of dairy cows during the hot season in the subtropics. **Animal**, v. 9, n. 9, p. 1559–1566, 2015.

WHEELOCK, J. B. et al. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 2, p. 644–655, 2010.

ZANQUI, A. B. et al. Subcritical extraction of flaxseed oil with n-propane: Composition and purity. **Food Chemistry**, v. 188, p. 452–458, 2015.