

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

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE PROTEÍNA NÃO DEGRADÁVEL NO  
RÚMEN COM OU SEM SOMATOTROPINA BOVINA PARA VACAS LEITEIRAS  
CONSUMINDO PASTAGEM**

**MARCIÉL FRANÇA**

**LAGES, SC  
JULHO, 2022**



**MARCIÉL FRANÇA**

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE PROTEÍNA NÃO DEGRADÁVEL NO  
RÚMEN COM OU SEM SOMATOTROPINA BOVINA PARA VACAS LEITEIRAS  
CONSUMINDO PASTAGEM**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciência Animal no Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal, área de concentração em Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. André Thaler Neto

**LAGES, SC  
JULHO, 2022**



## FICHA CATALOGRÁFICA

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

França, Marciél

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE PROTEÍNA  
NÃO DEGRADÁVEL NO RÚMEN COM OU SEM  
SOMATOTROPINA BOVINA PARA VACAS LEITEIRAS  
CONSUMINDO PASTAGEM / Marciél França. – 2022.

115 p.

Orientador: André Thaler Neto

Tese (doutorado) – Universidade do Estado de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de  
Pós-Graduação, Lages, 2022.

1. Farelo de soja protegido. 2. Somatotropina bovina  
recombinante. 3. Produção de Leite. 4. Pastagem perene  
de verão. I. Thaler Neto, André. II. Universidade do Estado de  
Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,  
Programa de Pós-Graduação . III. Título.



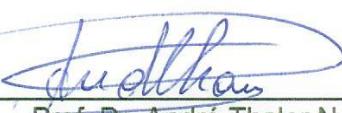
## Ata da banca

### **Efeito da suplementação de proteína não degradável no rúmen com ou sem somatotropina para vacas leiteiras consumindo pastagem**

Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal na Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Ciência Animal.

Banca Examinadora:

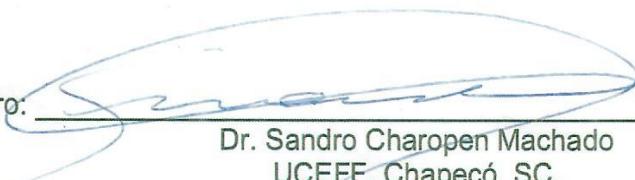
Orientador:

  
Prof. Dr. André Thaler Neto  
CAV – UDESC, Lages, SC

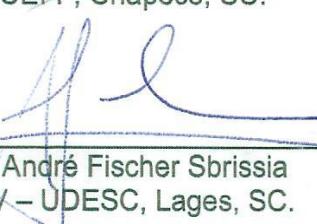
Membro:

  
Dr. Rodrigo de Almeida  
UFPR, Curitiba, PR.

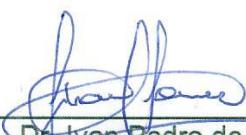
Membro:

  
Dr. Sandro Charopen Machado  
UCEFF, Chapecó, SC.

Membro:

  
Dr. André Fischer Sbrissia  
CAV – UDESC, Lages, SC.

Membro:

  
Dr. Ivan Pedro de Oliveira Gomes  
CAV – UDESC, Lages, SC

**LAGES, SC  
JULHO, 2022**



### Im Nebel

Seltsam, im Nebel zu wandern!  
Einsam ist jeder Busch und Stein.  
Kein Baum sieht den anderen.  
Jeder ist allein.

Voll von Freunden war mir die Welt,  
als noch mein Leben noch Licht war.  
Nun, da der Nebel fällt,  
ist keiner mehr sichtbar.

Wahrlich, keiner ist weise,  
der nicht das Dunkel kennt.  
Das unentrinnbar und leise  
von allem ihn trennt.

Seltsam, im Nebel zu wandern!  
Leben ist Einsamsein.  
Kein Mensch kennt den andern.  
Jeder ist allein.

Seltsam, im Nebel zu wandern!  
Leben ist Einsamsein.  
Kein Mensch kennt den andern.  
Jeder ist allein.

Jeder ist allein!  
Jeder ist allein!

**Hermann Hesse / Die Toten Hosen**

*“Qual é a tua vocação? Ser um bom homem. E como consegue sê-lo, a não ser mediante as reflexões, uma sobre a natureza do conjunto universal, e outra sobre a constituição peculiar do homem?”*  
**Marcus Aurelius**, Meditações 11.5

Alles aus Liebe...



## AGRADECIMENTOS

A Deus e todas as formas que ele agiu e segue agindo.

Aos meus pais, pelo exemplo, educação, apoio e compreensão desde sempre. Por nutrirem sonhos e serem inconformados. Por cederem o rebanho e serem grandes parceiros de pesquisa. Ter vocês, sempre fez valer a pena o todo.

Também a toda a família que soube apoiar e entender momentos de ausência. A minha Oma (avó) e madrinha Zita Borgert Dimon Warmeling que sempre inspirou esse curioso, ao Opa (*in memoriam*) também que instruiu um garotinho que quebrava lâmpadas para encontrar o motivo e a fonte da luz. Aos meu padrinho e madrinha de Crisma, Brando e Nilva, pelo carinho sempre e por terem presenteado esse curioso com uma novilha Jersey, a Fortuna, uma das causas de eu ser envolvido com o leite e ter buscado ser veterinário (\*de Jerseys, que fique claro ao leitor). É bom poder crescer sobre os ombros de gigantes e para mim esses gigantes são meus padrinhos.

A todos os que comigo embarcaram no desenvolvimento dos experimentos, desde conceber e principalmente executar. Foram muitos dias de cortar pasto, limpar camas, ordenhar, colher amostras, processar e analisar. Um agradecimento especial a colega de doutorado, amiga, namorada e futura esposa Dra. Adriana Hauser pela ajuda, risadas, discussões, caminhadas, e ao amor dedicado (afinal *Alles aus Liebe...*), essenciais a execução deste trabalho. Sem tamanha ajuda dos colegas de pós-graduação, Angélica, Roberto, André, Juliane, bolsistas Laiz, Bruna, Izabelly, Nathallie, Eduardo, Mateus, aos voluntários Pedro, Julio, William, Barbara, Laura aos estagiários Rainer e Luciano, funcionários Dorvalino, Miguel, Sandir, Iraci, Ademir e professores do CAV/UDESC nada disso seria possível. Foram dois invernos e primaveras no CAV/Udesc cortando pasto de Taarup e todas as previsibilidades e imprevisibilidades do Tambo.

Ao meu orientador Dr. André Thaler Neto, pela orientação, amizade e oportunidades que trabalhar com ele me proporcionou. Pelo tempo disposto em partilhar do vasto conhecimento e me desafiar. Agradeço também a Dra. Janice Valmorbida, pela ajuda e incentivo.

Ao professor Dr. Ivan Pedro de Oliveira Gomes, por desde a graduação termos longos períodos lendo, avaliando e buscando a aplicabilidade da ciência

gerada. Por, na condição de diretor de extensão do CAV/Udesc e professor, ser defensor da permanência e apoio da universidade via bolsas de trabalho para alunos com menores condições econômicas.

Aos também mentores desse projeto, professor Dr. Rodrigo de Almeida, Dr. Alexandre M. Pedroso, M. Vet. Airton Vanderlinde e M.Sc. Henrique Freitas. As sugestões enriqueceram em muito o projeto original e deram forma ao apresentado nesta tese.

Ao professor Dr. Luiz Cláudio Milette, por disponibilizar o laboratório para a realização das análises bioquímicas.

Aos professores do Departamento de Produção Animal e Alimentos, bem como de todo o CAV pela formação, auxílio e inspiração.

A minha família lageana, o casal Célia Goetten Antunes e Dinarte Antunes de Campos (*in memoriam*) pela amizade, acolhimento, convivência divertida e estímulo. Era conselho frequente deles que “fizesse o doutorado”. Também ao professor M.Sc. Jose Dotta e a Eva Juçara Dotta, pela amizade, incentivo e ajuda. O período em Lages não poderia ter sido mais repleto de amizade e experiências.

A Cargill pelo auxílio com insumos e análises.

Ao Centro de Ciências Agroveterinárias e a Universidade do Estado de Santa Catarina, minha *alma mater*, e de onde levo amizades, conhecimento e imenso orgulho de estudar nessa instituição que tanto contribui à sociedade catarinense e brasileira.

A Capes pela conceção da bolsa de doutorado.

Muito obrigado!



## RESUMO

FRANÇA, MARCIÉL. **Efeitos da suplementação de proteína não degradável no rúmen ou somatotropina bovina para vacas leiteiras consumindo pastagens.** 119 pg. Tese (Doutorado em Ciência Animal – Área: Produção Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Lages, 2022.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de maior participação de proteína não degradável no rúmen no pool da proteína metabolizável pela mudança na fonte de proteína (farelo de soja protegido Soypass BR®, Cargill - pSBM - em substituição ao farelo de soja convencional – SBM), associados ou não à suplementação com somatotropina bovina recombinante (rBST, Lactotropin®, União Química) sobre o metabolismo, consumo de alimentos, produção e qualidade do leite em vacas recebendo suplementação concentrada e pastagem. Foram conduzidos três experimentos, sendo dois no Setor de Bovinocultura de Leite do CAV/UDESC, utilizando vacas Holstein e Holstein x Jersey, confinadas recebendo concentrado e pastagem colhida de azevém anual fornecido à vontade. Um terceiro experimento foi realizado em uma propriedade comercial, com vacas Jersey mantidas em pastagem perene de verão e recebendo suplementação concentrada. Os concentrados continham 27% de farelo de soja no experimento 1 e 33% nos experimentos 2 e 3 (convencional ou protegido, conforme o tratamento) e a aplicação de rBST era realizada a cada 12 dias, na dose de 500 mg. Para o experimento 1, 15 vacas foram utilizadas, recebendo 12 kg de concentrado/dia em 3 tratamentos: SBM+rBST, pSBM e pSBM+rBST. No experimento 2 foram utilizadas 16 vacas em um esquema factorial 2 x 2 (tipo de farelo de soja e a suplementação ou não com rBST), recebendo 6 kg de concentrado e no experimento 3 foram utilizadas 36 vacas pastejando gramíneas de verão, suplementadas com 6 kg de concentrado/dia. Todos os experimentos foram em ensaio contínuo, em blocos casualizados e tiveram duração de 6 semanas, com 2 para adaptação aos tratamentos e 4 de coleta. Foram avaliados a produção, composição e características físico-químicas do leite, escore de condição corporal, peso vivo e níveis séricos de proteínas totais, albumina, globulinas, glicose e ácidos graxos não esterificados

(AGNE). Nos experimentos 1 e 2 também foi avaliado o consumo de alimentos pelas vacas. Os dados foram submetidos a análise de variância, com medidas repetidas no tempo. A suplementação com rBST aumentou a produção de leite em 2 kg/vaca/dia, e as produções de caseína e lactose no experimento 1; e em 3,2 kg/vaca/dia de leite e as produções de gordura, proteína e lactose no experimento 2. Não houve diferenças significativas no consumo de alimentos para os tratamentos de ambos os experimentos, bem como para as variáveis de perfil metabólico, a exceção do nível sérico de AGNE, que foi maior para as vacas recebendo pSBM+rBST no experimento 1. No experimento 3, a produção de leite foi maior nas vacas suplementadas com rBST comparadas às não suplementadas (21,6 vs. 19,1 kg/dia), com alguma mobilização de reservas corporais (AGNE = 0,236 vs. 0,185 mmol/L, para vacas suplementadas com rBST e não suplementadas, respectivamente). Também as vacas suplementadas com pSBM produziram mais leite comparadas às suplementadas com SBM (21,6 vs. 19,1 kg/dia), sem diferenças para AGNE. A suplementação de rBST e de pSBM, de forma simultânea foi efetiva em aumentar a produção de leite (+4,9 kg/dia) frente ao não uso de suplemento, e ao uso isolado (+3,4 kg/dia), assim como a maior produção diária de componentes. Conclui-se que vacas confinadas, no terço final da lactação, recebendo forragem colhida de azevém respondem a suplementação com rBST, sendo a suplementação com SBM suficiente para suportar a produção de leite. Já para vacas mantidas em pastagens perenes de verão tem maior produção de leite e componentes quando suplementadas com pSBM ou rBST, havendo ainda, ganho adicional na associação dos suplementos.

**Palavras-chave:** farelo de soja protegido, somatotropina bovina recombinante, produção de leite, pastagem perene de verão



## ABSTRACT

FRANÇA, MARCIÉL. **Effect of rumen non-degradable protein supplementation or bovine somatotropin for dairy cows consuming pasture.** 2022. 119 p. Thesis (Doctoral Thesis in Animal Science - Area: Animal Production) - State University of Santa Catarina. Postgraduate Study in Animal Science, Lages, 2022.

The objective of this study was to evaluate the effect of a greater rumen undegradable protein participation into metabolizable protein by changing the protein source (protected soybean meal (Soypass BR®, Cargill - pSBM - replacing soybean meal - SBM) associated or not with recombinant bovine somatotropin supplementation (rBST, Lactotropin®, União Química) on metabolism, feed intake, production and milk quality in cows receiving concentrated supplementation and pasture. Three experiments were conducted, two in the dairy cattle sector of CAV/UDESC using Holstein and Holstein x Jersey cows, confined, fed concentrate, and harvested annual ryegrass forage ad libitum. A third experiment was carried out on a commercial property, with Jersey cows kept on perennial summer pasture and receiving concentrated supplementation. Concentrates had 27% soybean meal in experiment 1 and 33% in the others (conventional or protected, depending on the treatment), and the application of rBST was performed every 12 days, at a dose of 500 mg. For experiment 1, 15 cows were used, receiving 12 kg of concentrate/day in 3 treatments: SBM+rBST, pSBM and pSBM+rBST. In experiment 2, 16 cows were used in a 2 x 2 factorial design (type of soybean meal and supplementation or not with rBST), receiving 6 kg of concentrate and in experiment 3, 36 cows were used grazing summer grasses, supplemented with 6 kg of concentrate/day. All experiments were in a continuous trial, in randomized blocks, and lasted 6 weeks, with 2 for adaptation to treatments and 4 for collection. Milk production, composition, physicochemical characteristics, body condition score, live weight, and serum levels of total proteins, albumin, globulins, glucose, and non-esterified fatty acids (NEFA) were evaluated. In experiments 1 and 2, feed consumption by cows was also evaluated. Data were submitted for analysis of variance, with repeated measures over time. Supplementation with rBST increased milk yield by 2 kg/cow/day, and casein and lactose yields in experiment 1; and at 3.2 kg/cow/day of milk the production of fat, protein, and lactose in experiment 2.

There were no significant differences in feed intake for the treatments of both experiments, as well as for the metabolic profile variables, except for the serum level of NEFA, which was higher for cows receiving pSBM+rBST in experiment 1. In experiment 3, milk production was higher in cows supplemented with rBST compared to non-supplemented (21.6 vs. 19.1 kg /day), with some mobilization of body reserves (AGNE = 0.236 vs. 0.185 mmol/L, for rBST-supplemented and non-supplemented cows, respectively). Also, cows supplemented with pSBM produced more milk compared to those supplemented with SBM (21.6 vs. 19.1 kg/day), with no differences for NEFA. Simultaneous rBST and pSBM supplementation was effective in increasing milk production (+4.9 kg/day) compared to non-use of the supplement, and to the isolated use (+3.4 kg/day), as well as the greater daily production of components. It is concluded that confined cows, in the final third of lactation, receiving forage harvested from ryegrass respond to rBST supplementation, with SBM supplementation being sufficient to support milk production. For cows kept on perennial summer pastures, there is greater production of milk and components when supplemented with pSBM or rBST, and there is also an additional gain in the association of supplements.

**Key-words:** protected soybean meal, recombinant bovine somatotropin, milk production, perennial summer pasture



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fotos do experimento 01. <b>A</b> : vista da área experimental de cultivo de azevém. <b>B</b> : vacas alojadas em sistema Tie-Stall. <b>C</b> : detalhe da cama de palha. <b>D</b> : vacas alojadas em cama de serragem.....	59
Figura 2. Fotos do experimento 02. <b>A e B</b> : corte da pastagem no período prévio ao experimento. <b>C</b> : vaca consumindo forragem fresca. <b>D</b> :Corte de forragem no período experimental <b>E</b> : Vista das vacas no galpão .....	60
Figura 3. Fotos do decorrer do experimento de verão. A, B e C: Vacas do experimento pastejando em rebanho comum na propriedade. D: Pista de alimentação onde eram servidos os concentrados e contidas as vacas para coletas.....	85
Figura 4. Efeito da suplementação de farelo de soja (SBM) ou farelo de soja protegido (pSBM) associado ou não a somatotropina bovina recombinante (rBST) para produção de leite (A e B), produção de leite corrigida pela energia (LCE) (C e D), e produções diárias de gordura (E e F) de vacas Jersey consumindo pastagem tropical.....	94
Figura 5. Efeito da suplementação de farelo de soja (SBM) ou farelo de soja protegido (pSBM) associado ou não a somatotropina bovina recombinante (rBST) para produções diárias de proteína (A e B) e caseína (C e D) de vacas Jersey consumindo pastagem tropical .....	95
Figura 6.Efeito da suplementação de farelo de soja (SBM) ou farelo de soja protegido (pSBM) associado ou não a somatotropina bovina recombinante (rBST) para as concentrações séricas de albumina (A e B) e globulinas (C e D), de vacas Jersey consumindo pastagem tropical .....	96



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição dos concentrados e composição bromatológica da forragem fornecida e dos concentrados no experimento 01. ....	61
Tabela 2. Estimativas de suprimento e balanço de proteína das dietas do experimento 01, segundo a composição bromatológica e dados médios de tratamentos no modelo NRC (2001).....	62
Tabela 3. Composição dos concentrados e composição bromatológica da forragem fornecida e dos concentrados no experimento 02. ....	63
Tabela 4. Estimativas de suprimento e balanço de proteína das dietas experimentais no experimento 02, segundo a composição bromatológica e dados médios de tratamentos no modelo NRC (2001). ....	64
Tabela 5. Média dos quadrados mínimos, erro padrão da média (EPM) e valor de P para produção de leite, produção corrigida pela energia (ECM), composição, produção de componentes, características físico-químicas, escore de células somáticas (ECS, peso vivo, escore de condição corporal (ECC) e perfil metabólico de vacas suplementadas com farelo de soja protegido (pSBM), farelo de soja protegido e somatotropina bovina recombinante (pSBM+rBST) ou com farelo de soja convencional e somatotropina bovina recombinante (SBM+rBST) recebendo forragem de azevém fresco cortado e servido no cocho. ....	68
Tabela 6. Média dos quadrados mínimos e erro padrão da média do consumo total, de pastagem, concentrado, fibra em detergente neutro (FDN) total e oriundo de forragem (FDNfo), matéria orgânica (MO) e proteína bruta (PB) de vacas suplementadas com farelo de soja protegido (pSBM), farelo de soja protegido e somatotropina bovina recombinante (pSBM+rBST) ou com farelo de soja convencional e somatotropina bovina recombinante (SBM+rBST) recebendo forragem de azevém fresco cortado e servido no cocho. ....	70
Tabela 7. Média dos quadrados mínimos, erro padrão da média (EPM) e valor de P para produção de leite, produção corrigida pela energia (ECM),	

composição, produção de componentes, características físico-químicas, escore de células somáticas (ECS), peso vivo e escore de condição corporal (ECC) de vacas suplementadas com 6 kg/dia de concentrado contendo farelo de soja (SBM) ou farelo de soja protegido (pSBM) com ou sem somatotropina bovina recombinante (rBST) recebendo forragem de azevém fresco cortado e servido no cocho..... 73

Tabela 8. Média dos quadrados mínimos, erro padrão da média (EPM) e valor de P para as concentrações de proteínas totais, albumina, globulinas, glicose e de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no soro sanguíneo de vacas suplementadas com 6 kg/dia contendo farelo de soja (SBM) ou farelo de soja protegido (pSBM) com ou sem somatotropina bovina recombinante (rBST) recebendo forragem de azevém fresco cortado e servido no cocho. .... 74

Tabela 9. Média dos quadrados mínimos e erro padrão da média do consumo total, de pastagem, concentrado, fibra em detergente neutro (FDN) total e oriundo de forragem (FDNfo), matéria orgânica (MO) e proteína bruta (PB) de vacas suplementadas com 6 kg/dia de concentrado contendo farelo de soja (SBM), ou farelo de soja protegido (pSBM) com ou sem somatotropina bovina recombinante (rBST) recebendo forragem de azevém fresco cortado e servido no cocho..... 75

Tabela 10. Composição da pastagem e dos concentrados experimentais fornecidos..... 85

Tabela 11. Média dos quadrados mínimos, erro padrão da média (EPM) e valor de P para produção de leite, produção corrigida pela energia (ECM), composição, produção de componentes, características físico-químicas, peso vivo e escore de condição corporal (ECC) de vacas suplementadas com farelo de soja (SBM), farelo de soja protegido (pSBM) com ou sem somatotropina bovina recombinante (rBST)..... 92

Tabela 12. Média dos quadrados mínimos, erro padrão da média (EPM) e valor de P para perfil metabólico de vacas suplementadas com farelo de soja (SBM),

farelo de soja protegido (pSBM) e/ou somatotropina bovina recombinante (rBST).

..... 93



## LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Aminoácidos
AAE	Aminoácidos essenciais
AANE	Aminoácidos não essenciais
AGNE	Ácidos graxos não esterificados
BEN	Balanço energético negativo
ECC	Escore de condição corporal
ECS	Escore de células somáticas
EDTA	Tetra-acetato de etilenodiamino
EE	Extrato etéreo
FDA	Fibra insolúvel em detergente ácido
FDN	Fibra insolúvel em detergente neutro
GLP-1	Peptídeo semelhante a glucagon 1, do inglês, <i>glucagon-like peptide-1</i>
ha	Hectare
IGF-1	Fator de Crescimento semelhante a Insulina tipo-1
MM	Matéria mineral
MS	Matéria seca
mTOR	Alvo da Rapamicina em Mamíferos
NUL	Nitrogênio ureico do leite
PB	Proteína bruta
PDR	Proteína degradável no rúmen
PM	Proteína metabolizável
PMic	Proteína microbiana
PNDR	Proteína não degradável no rúmen
pSBM	Farelo de soja protegido
rBST	Somatotropina bovina recombinante
SBM	Farelo de soja
ST	Somatotropina



## SUMÁRIO

RESUMO .....	37
ABSTRACT .....	40
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	35
REGULAÇÃO DO CONSUMO EM VACAS LEITEIRAS .....	35
ENCHIMENTO RUMINAL .....	35
REGULAÇÃO METABÓLICA.....	37
EFEITOS DE DIFERENTES NUTRIENTES .....	38
FATORES NÃO NUTRICIONAIS.....	38
Disponibilidade de alimentos .....	39
Estresse calórico .....	40
INTEGRAÇÃO DE SINAIS .....	41
PROTEÍNA NA DIETA VACAS LEITEIRAS CONSUMINDO PASTAGENS.....	42
DEFINIÇÕES E MODELOS NUTRICIONAIS .....	42
Proteína degradável no rúmen (PDR) e proteína não degradável no rúmen (PNDR) .....	42
Proteína Metabolizável (PM) .....	45
EFEITOS DA PROTEÍNA NA DIETA DE VACAS EM LACTAÇÃO CONSUMINDO PASTAGENS .....	45
SOMATOTROPINA .....	48
HIPÓTESE .....	52
OBJETIVOS .....	53
OBJETIVO GERAL .....	53
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	53
ARTIGO 1 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE PROTEÍNA NÃO DEGRADÁVEL NO RÚMEN COM OU SEM SOMATOTROPINA BoVINA PARA VACAS LEITEIRAS CONSUMINDO PASTAGEM ANUAL DE INVERNO .....	54
RESUMO .....	54
ABSTRACT .....	55
INTRODUÇÃO .....	56
MATERIAL E MÉTODOS .....	58
Animais, alojamento e duração .....	58
Tratamentos e alimentação.....	59

Coletas e avaliações .....	64
Análises Laboratoriais.....	65
Cálculos e Análise estatística .....	66
RESULTADOS .....	67
Experimento 1 .....	67
Experimento 2 .....	70
DISCUSSÃO .....	76
CONCLUSÕES .....	78
Artigo 2 - FARELO DE SOJA PROTEGIDO ASSOCIADO OU NÃO A SOMATOTROPINA AUMENTA A PRODUÇÃO DE LEITE DE VACAS EM PASTAGEM PERENE DE VERÃO .....	79
RESUMO.....	79
ABSTRACT.....	80
INTRODUÇÃO .....	81
MATERIAL E MÉTODOS .....	83
RESULTADOS .....	89
CONCLUSÕES .....	101
CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	102
.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>



## INTRODUÇÃO

A alimentação representa o maior custo em propriedades produtoras de leite com animais especializados, independente do modelo que adotem quanto a alimentação e alojamento do rebanho. Sendo assim, explorar de forma racional e eficiente os recursos disponíveis é uma meta constante e que demanda contínua pesquisa sobre como um ou mais nutrientes afetam a produção e qualidade do leite.

Em rebanhos alimentados com forragens conservadas e alimentos concentrados, a disponibilidade *a priori* dos mesmos permite a análise e formulação para adequar a dieta as necessidades da vaca.

No caso de sistemas baseados em pastagem essa adequação se baseia no manejo da espécie forrageira com critérios que buscam atender qualidade e quantidade de forragem disponível. O suplemento precisa ser confeccionado de modo a preencher lacunas presentes na forragem colhida, que varia conforme as condições de manejo e ambiente (JACOBS, 2014).

As vacas leiteiras alimentadas exclusivamente com pastagens possuem a energia como principal limitante à produção pela qualidade da forragem, menor ingestão, atividade de deslocamento e pastejo, limitação física do alimento ou desequilíbrio da composição frente as exigências da vaca (BARGO et al., 2003a; KELLAWAY; HARRINGTON, 2004; KOLVER, 2003b). Por isso, grande parte dos animais mantidos em pastagens recebe suplementação com fontes de energia, que pode dentro de alguns limites, ser oriunda de amido, açúcares, fibra de alta digestibilidade ou gorduras. Outro objetivo da suplementação é fornecer substratos fermentáveis no rúmen (ex. amido, açúcares) permitindo aos microrganismos maior captação do nitrogênio advindo da proteína degradável da pastagem (HIGGS et al., 2013; HILLS et al., 2015).

A somatotropina (ST) é um hormônio proteico, presente naturalmente no organismo, que pode ser suplementado visando aumento na produção de leite. A resposta a suplementação é linear até 50 mg/dia de ST e varia de 2 a 6 kg/dia de leite. Para vacas que pastejam parte de sua dieta, esse aumento na demanda por nutrientes pode ser bastante crítico se a dieta e fatores relacionados a ela não suportarem aumento no consumo a médio prazo.

A suplementação de proteína para vacas leiteiras vem sendo investigada há mais de um século. Porém, o termo proteína designa uma macromolécula biológica formada por uma ou mais cadeias de aminoácidos, sendo conhecido que a sua composição em aminoácidos, tamanho e estrutura permitem segmentar em grupos segundo a sua complexidade e ao uso ao qual se destinam. Os modelos lançados pelo National Research Council (NRC) vêm desde 1945 trabalhando formas de se entender a utilização da proteína da dieta pela vaca e a forma como isso pode ser aplicado as dietas. Atualmente, o balanceamento com base em frações de proteína e na sua composição visando fornecer quantidades e relações de AA às vacas, é a estratégia usada, porém, enfrenta limitações na determinação precisa da composição de AA na proteína dos alimentos, sua degradabilidade ruminal e a digestibilidade da proteína não degradável no rúmen (NASEM, 2016, 2021; NRC, 2001).

Para sistemas baseados em pastagem, onde existe variação na espécie e manejo, no clima e resposta da forragem a esses fatores, modelos precisos são difíceis de serem conduzidos. Estudos avaliando a suplementação de níveis maiores de proteína via concentrado mostram que a resposta é nula quando as vacas dispõem de forragem de boa qualidade, tanto para vacas em pastagens de clima temperado (HYNES et al., 2016), como de clima subtropical e tropical (DANES et al., 2013a; SEMMELMANN et al., 2008). Porém, esses estudos usaram fontes de proteína de alta degradabilidade no rúmen, em dietas onde a proteína da forragem já é altamente degradável (VAN VUUREN; VAN DEN POL, 2006). A suplementação proteica tem sido efetiva em aumentar a produção de leite quando, após o rúmen, a quantidade de aminoácidos disponíveis para a vaca é maior (AMANLOU; FARAHANI; FARSUNI, 2017; KALSCHEUR et al., 1999, 2006). Além do efeito direto do aporte de AA limitantes, um maior suprimento de AA pode estar envolvido na sinalização celular, aumentando a produção de proteína do leite e lactose, essa última consequentemente levando a aumento da produção de leite (DOEPEL; LAPIERRE, 2010; GALINDO et al., 2011; LAPIERRE et al., 2010). Isso condiciona a confecção de suplementos que aumentem a proteína metabolizável da dieta, seja com substratos fermentáveis, capazes de aumentar a produção microbiana no rúmen ou com aminoácidos ou proteínas que passem inertes pelo rúmen e sejam digeridos pela vaca a nível intestinal.

O objetivo final da produção de leite é o mercado, de modo que a percepção do consumidor sobre o produto pode ser uma guia e também originar exigências nos sistemas de produção. O uso da suplementação com rBST pode trazer uma percepção negativa por parte dos consumidores (WOLF; TONSOR; OLYNK, 2011). Assim, restrições legais no uso de rBST existem por exemplo na Europa e no Canadá (BRINCKMAN, 2001). Nos EUA a pressão dos consumidores por produtos “rBST-free” criou uma restrição comercial, que tem causado a diminuição no uso de rBST nos rebanhos daquele país (DAIRY HERD MANAGEMENT, 2017; GRANT, 2015; WOLF et al., 2016). A possibilidade de abandono do uso de rBST em breve, seja por questão legal ou comercial, demanda que novas ferramentas sejam avaliadas como promotores da produção de leite. Melhorias no conforto das instalações, no balanceamento e qualidade das dietas, bom manejo reprodutivo e a continuidade da intensa seleção genética são pontos importantes também em fazendas que usem rBST, mas ganham mais importância em cenários sem rBST (DAIRY HERD MANAGEMENT, 2016). Dentro da alimentação de vacas leiteiras, os efeitos que o maior aporte de AA tem sobre a produção de leite e componentes (DANES et al., 2020; LAPIERRE et al., 2010a, 2012; YODER et al., 2020), trazem indícios que a suplementação com AA pode ser usada também como forma de aumentar o desempenho produtivo através da sinalização celular que estes causam (FLYNN; SHAW; BECKER, 2020).

Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da substituição do farelo de soja convencional por farelo protegido de degradação ruminal, aumentando a participação da fração de proteína não degradável no rúmen dentro da proteína metabolizável, sobre o metabolismo, consumo de alimentos, produção e qualidade do leite, em vacas consumindo pastagens com ou sem suplementação de somatotropina bovina recombinante. Para tal, foram conduzidos 3 experimentos, sendo 2 em vacas confinadas com pastagem de azevém anual colhida, para permitir a avaliação de consumo e um ensaio de campo com vacas pastejando gramíneas perenes de verão.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### REGULAÇÃO DO CONSUMO EM VACAS LEITEIRAS

O alimento ingerido e posteriormente digerido é a fonte de nutrientes para a manutenção, crescimento e produção de uma vaca (ROCHE et al., 2008). Assim é necessário compreender os fatores que agem no estímulo ou na inibição do apetite.

A ingestão em vacas leiteiras é regulada por uma série de fatores oriundos da própria vaca como a produção de leite, estágio fisiológico, fatores da sua interação com o ambiente e fatores da dieta a que ela tem acesso (ALLEN; PIANTONI, 2013; NASEM, 2021; VAN SOEST, 1994). Além disso, o comportamento ingestivo é regulado pelo hipotálamo, a partir de sinais periféricos do fígado, intestino, metabólitos e hormônios (ALLEN; PIANTONI, 2013).

O consumo de alimento é produto do tamanho da refeição e da frequência de refeições. O tamanho da refeição é dado pela taxa de ingestão e duração da refeição, sendo a duração da refeição determinada pela saciedade. A frequência de refeições é afetada pelo intervalo entre refeições, que é regulado pela sensação de fome. Os mecanismos que regulam fome e saciedade são uma integração entre sinais como o enchimento ruminal, regulação endócrina por peptídeos do intestino e a oxidação de substratos, mecanismos interligados, integrados e aditivos (ALLEN; PIANTONI, 2013). A seguir discorreremos sobre tais mecanismos.

### ENCHIMENTO RUMINAL

O enchimento ruminal é sinalizado por meio de receptores de tensão, localizados no retículo e no saco cranial do rúmen e são conectados aos centros de saciedade do cérebro. É o mecanismo que controla a ingestão de alimento nos períodos de mais alta produção de uma vaca leiteira (ALLEN; PIANTONI, 2013; NASEM, 2021).

Por muito tempo o teor FDN da dieta foi o único parâmetro proposto para explicar a limitação de consumo por enchimento ruminal. Porém, em dietas com

fontes de fibra não-forragem, a ingestão não é tão limitada como naquelas onde a fibra é oriunda de forragens. Atualmente sabe-se que o teor de FDN é o fator mais importante, mas outras características relacionadas agem em conjunto (NASEM, 2021), sendo as de maior relevância a fragilidade da forragem em ter seu tamanho de partícula reduzido, a fração digestível e a taxa de passagem (ALLEN, 2020; ALLEN; PIANTONI, 2013, 2014; NASEM, 2021). O efeito da fonte fibra (gramínea x leguminosa) foi incorporado ao modelo de predição de consumo do NASEM (2021), na forma de relação FDA/FDN, já que gramíneas tem relação mais baixa e maior tempo de retenção ruminal. O tamanho de partícula influencia no tempo de retenção, pois as partículas precisam ser reduzidas para deixarem o rúmen-retículo (ALLEN; PIANTONI, 2013, 2014; NASEM, 2021). Além do efeito de distensão, no rúmen há regulação por meio de receptores de osmolaridade (ALLEN, 2000; ALLEN; PIANTONI, 2013). Além do rúmen, o abomaso tem um efeito proposto na regulação do consumo, pelo seu enchimento/esvaziamento (NASEM, 2021). Os efeitos da digestibilidade da FDN são aplicáveis dentro de cada espécie de forragem e não seu uso na comparação de forragens, como leguminosas *versus* gramíneas (NASEM, 2021).

Para vacas em lactação confinadas e alimentadas com dietas a base de alimentos fermentados ou fenos como forragens, a ingestão de fibra oriunda de forragem (FDNfo), varia de 0,9 a 1,2% do peso vivo, variando conforme o tipo de alimento e o estágio de lactação (HUTJENS, 2018). No entanto, em experimentos com pastejo e animais de menor produção, valores por vezes maiores que 1,5% do peso vivo em são reportados (KOLVER, 2003; MIGUEL et al., 2014). No entanto, os níveis de FDN das forrageiras tipicamente são maiores que os encontrados em dietas completas. Diferenças quanto ao tipo de forrageira também ocorrem, sendo que o material colhido de espécies de metabolismo C4 tem maiores níveis de fibra, o que confere diluição aos demais componentes, comparado com espécies de metabolismo C3 (FULKERSON et al., 2007).

## REGULAÇÃO ENDÓCRINA

A grelina e a colecistoquinina (CCK) são peptídeos intestinais que contribuem no controle do consumo, junto do peptídeo semelhante a glucagon 1 (GLP-1, do inglês, *glucagon-like peptide-1*) e sua ação na liberação de insulina. Grande parte do conhecimento sobre a ação destes peptídeos são derivados de estudos com monogástricos. A grelina é chamada de hormônio da fome e é secretada pelo abomaso, sendo a única conhecida como tendo ação estimulante sobre o consumo, esvaziamento gástrico e taxa de passagem no rúmen. Outros peptídeos intestinais são liberados em resposta a componentes do quimo e tem ação na modulação da taxa de esvaziamento gástrico e secreção de enzimas ou bile. Todos esses sinais são integrados aos centros cerebrais de saciedade e fome, onde é montada a resposta correspondente (ALLEN, 2020; ALLEN; PIANTONI, 2013, 2014).

## REGULAÇÃO METABÓLICA

Os metabólitos são compostos resultantes da dieta ou da mobilização de reservas corporais. Eles regulam o consumo pela sua capacidade de serem oxidados pelo fígado que desempenha papel de sensor. A oxidação dos substratos sinaliza a quantia de nutrientes em circulação na vaca e a partir disso o sistema nervoso central pode modular o consumo. Dentre os substratos oxidados pelo fígado temos os ácidos graxos e glicerol (oriundos da dieta ou da mobilização de reservas corporais), o propionato e lactato (oriundos da fermentação ruminal) e aminoácidos (oriundos da digestão ou da mobilização de reservas). Essa via de regulação é proposta como um modelo que explica a regulação de consumo além dos efeitos já discutidos, sendo chamado de Teoria da oxidação hepática dos substratos (HOT, do inglês, *hepatic oxidation theory*). A Teoria HOT se ampara no efeito hipofágico, causado pela infusão de propionato e lactato, o mesmo efeito causado pelo consumo de fontes de amido altamente fermentável e pela presença de níveis elevados de ácidos graxos (como em vacas em início de lactação) (ALLEN, 2000, 2020; ALLEN; PIANTONI, 2013, 2014).

## EFEITOS DE DIFERENTES NUTRIENTES

A inclusão de carboidratos rapidamente fermentáveis no rúmen deprime o consumo, pois aumenta o fluxo hepático de propionato que será oxidado para geração de energia. Quando o sítio de digestão é pós-ruminal, o efeito depressor no consumo não ocorre. No caso de açúcares, o efeito não ocorre, já que sua fermentação gera butirato, que é absorvido e utilizado preferencialmente na parede ruminal (NASEM, 2021).

Os efeitos da inclusão de gorduras variam conforme o perfil de ácidos graxos. É admitida tendência de aumento ou não modificação no consumo, quando fontes de ácidos graxos de cadeia longa são suplementadas, enquanto outras fontes, especialmente as ricas em ácidos graxos insaturados, deprimem o consumo (ALLEN, 2000; WELD; ARMENTANO, 2017). O NASEM (2021) traz como exceções as fontes de gordura saturada ricas em ácido palmítico que não afetam o consumo e os ácidos graxos de cadeia média que deprimem consumo.

Efeitos clássicos da proteína da dieta sobre o consumo de vacas em lactação são relatados em dietas onde há deficiência de proteína degradável no rúmen. Isso causa a diminuição na degradabilidade da fração FDN, aumentando o tempo de retenção do alimento e exacerbando a limitação física (KOZLOSKI, 2011; NRC, 2001; SANTOS; PEDROSO, 2011).

## FATORES NÃO NUTRICIONAIS

Além dos já discutidos aspectos da dieta, a vaca e o ambiente também são fatores reconhecidos e que podem estimular ou inibir o consumo. A ingestão total de nutrientes via alimentação de uma vaca leiteira se dá pela ingestão, e o comportamento ingestivo afeta diretamente a ingestão de alimentos e ao mesmo tempo, pode ser um indicativo de saúde da vaca leiteira. O comportamento ingestivo, pode ser descrito usando uma série de medidas incluindo o número e a duração das refeições, o consumo e a taxa de consumo (KEYSERLINGK; WEARY, 2010).

Hábitos alimentares e comportamentais, clima, acesso à alimentação e frequência de alimentação, também estão relacionados ao consumo. O aumento da frequência de oferecimento do alimento, aumenta a produção de leite e tende

a reduzir problemas de saúde das vacas (NRC, 2001). Já, o estresse térmico por frio ou calor, o quanto um animal se locomove, as condições do terreno, se passa mais tempo em pé pela falta de conforto ao deitar, idade, peso vivo, número de lactações, qualidade dos alimentos, uso de aditivos alimentares na dieta, também afetam o consumo e por consequência, o desempenho de vacas leiteiras a pasto (HALL, 2003; HUTJENS, 2005).

### **Disponibilidade de alimentos**

Em rebanhos manejados intensivamente, o comportamento ingestivo é muitas vezes altamente sincronizado, sendo o fornecimento de alimento um importante fator estimulador de consumo (KEYSERLINGK; WEARY, 2010). O fornecimento de comida fresca é um estímulo muito mais forte do que apenas o retorno da ordenha, influenciando assim, o tempo dispendido para alimentação e consequentemente, alterando o padrão alimentar de vacas confinadas. Ao mesmo tempo, uma vaca se alimentar, pode estimular outra a fazer o mesmo, independentemente se está com fome ou não (ALBRIGHT, 1993).

Para vacas em pastejo, a estrutura de uma pastagem é uma característica central e determinante tanto da dinâmica de crescimento e competição nas comunidades vegetais quanto do comportamento ingestivo. Entende-se por estrutura, disposição espacial da biomassa aérea, podendo ser descrita de diversas formas, como a disponibilidade de alimento por área, por exemplo. Variáveis associadas ao processo de pastejo dos animais em resposta à estrutura da vegetação explicam e determinam os seus níveis de produção (CARVALHO et al., 2001). De forma geral, para animais em pastejo é admitido que em pastos com adequada estrutura para a espécie (melhor relação qualidade : quantidade), o consumo não é fortemente afetado desde que não se rebaixe mais de 50% da altura de entrada (DELAGARDE et al., 2001; MEZZALIRA et al., 2014).

O aumento da oferta de forragem, tem um efeito positivo sobre o consumo, sendo considerado que o máximo consumo se encontra em ofertas ao redor de 10 a 12% do peso vivo (BARGO et al., 2003). Porém, a ingestão de vacas em pastejo é reconhecidamente menor que a de vacas alimentadas com dietas completas, mesmo que sejam oferecidas estruturas “ótimas” de forragem

e com alta oferta por animal (BARGO et al., 2003; JACOBS, 2014; KOLVER, 2003). Também o fornecimento dessa oferta tem efeito negativo sobre a estrutura e qualidade do pasto, além de menor produção por área e menor lucratividade (BAUDRACCO et al., 2010). Dessa forma, em sistemas comerciais de produção de leite baseados em pastagens a oferta de forragem é geralmente restrita, e os efeitos negativos do consumo são atenuados com a suplementação (JACOBS, 2014).

Apesar de suas limitações ao consumo, as forrageiras colhidas por pastejo são consideradas um recurso alimentar importante em sistemas de produção de ruminantes, e seu uso para vacas leiteiras é associado a sistemas em clima temperado de custo baixo ou médio, competitivos internacionalmente (JACOBS, 2014). Em ambiente tropical e subtropical, com gramíneas de via fotossintética C4, a aplicação e atenção à fisiologia e manejo permitem melhor uso desses recursos (DA SILVA; SBRRISSIA; PEREIRA, 2015). Em trabalhos onde a pastagem foi colhida atendendo a aspectos de fisiologia da planta e que as vacas receberam suplementação moderada, são observados consumos médios de forragem pastejada de 12 kg de MS/dia, suportando produções de leite ao redor de 20 kg/vaca/dia (BATALHA et al., 2022; DANES et al., 2013a).

O uso de forragem fresca cortada para vacas em lactação traz desafios ao uso em pesquisa, já que as características da pastagem variam de forma intensa conforme as condições de clima e estágio fenológico da planta. No entanto, o uso de forragem fresca pode ser uma alternativa de oferecer alimentos de boa qualidade, sem custos de conservação e aumentar a proporção de forragem nas dietas (HYNES et al., 2016; THOMAS, 2021). Essa estratégia também pode ser usada para modificar as características sensoriais do produto, atendendo a demandas do consumidor (DE LA TORRE-SANTOS et al., 2020; MARTIN et al., 2005).

## **Estresse calórico**

Temperaturas ambientais elevadas exercem um efeito negativo sobre o centro do apetite do hipotálamo (DAS et al., 2016). Em vacas leiteiras sob estresse calórico, ocorre uma redução do consumo de alimento, pois os processos de digestão e o metabolismo de nutrientes, geram grandes

quantidades de calor (BAUMGARD; RHOADS, 2013). Como consequência, vacas podem perder peso, escore de condição corporal (ECC) e consequentemente, entrar em balanço energético negativo (BEN) (DAS et al., 2016).

## INTEGRAÇÃO DE SINAIS

A partir do exposto, o estímulo para que uma vaca inicie ou pare o consumo de alimentos é dado pela integração desses sinais. Conforme o estado fisiológico, um pode se sobressair aos demais. Em vacas no período de transição, os sinais metabólicos são bastante presentes, então atenção deve ser dada ao nível de carboidratos fermentáveis na dieta e ao de ácidos graxos não esterificados no sangue. À medida que a lactação avança para o pico de produção, o enchimento ruminal domina os demais sinais, e estratégias de fornecimento adequado, mas não excessivo de fibra devem ser utilizadas (NASEM, 2021). Em todas as fases, o entendimento e sempre que possível controle sobre os fatores não nutricionais devem propiciar a vaca o menor grau de limitação ao seu consumo.

## PROTEÍNA NA DIETA VACAS LEITEIRAS CONSUMINDO PASTAGENS

### DEFINIÇÕES E MODELOS NUTRICIONAIS

Proteínas são macromoléculas formadas pela união de n-aminoácidos por meio de ligações peptídicas, com suas características e funções atreladas a sua composição e estrutura tridimensional. No organismo elas desempenham papéis estruturais, catalíticos, anabólicos, de transporte e sinalização (NRC, 2001). No entanto, a descrição de proteína nos alimentos ainda é em sua maior parte oriunda da determinação do N x 6,25, que fornece o valor de proteína bruta (PB) (SCHWAB; BRODERICK, 2017), caracterização demasiado genérica para permitir o adequado estabelecimento de exigências.

A exigência de uma vaca é por aminoácidos, no entanto o fato de ser ruminante implica em que sejam atendidas as exigências de nitrogênio não proteico e AA para a fermentação ruminal e de AA para a vaca (SCHWAB; BRODERICK, 2017). Basicamente, a proteína no alimento é fracionada em parte degradável no rúmen (PDR) e parte não degradável no rúmen (PNDR). A forma como essas frações são definidas tem peculiaridades conforme o modelo utilizado.

#### **Proteína degradável no rúmen (PDR) e proteína não degradável no rúmen (PNDR)**

No modelo do NRC (2001) a degradabilidade de uma proteína é dada com base em análise *in situ* com determinação de frações. A fração A é aquela que imediatamente escapa do saco de nylon ao ser incubada (basicamente o N não proteico e alguma proteína verdadeira de alta solubilidade ou tamanho reduzido), e toda essa fração é considerada degradável no rúmen. A fração C é constituída de proteína que permanece no saco de nylon passadas 48 horas para concentrados ou 72 horas para forragens, e é a fração não degradável no rúmen. A fração B é obtida por diferença ( $B=100-(A+C)$ ) e é proteína potencialmente degradável no rúmen. A porção degradada é dada em função da taxa de degradação ( $K_d$ ) e do tempo que permanece no rúmen, ou taxa de passagem

(Kp). Assim através de equações podem ser obtidas as frações de PDR e PNDR para um dado alimento ou dieta:

$$PDR = A + B [Kd / (Kd + Kp)]$$

$$PNDR = B [Kp / (Kd + Kp)] + C$$

Outra proposição para determinar PDR e PNDR é a adotada pelo sistema CNCPS (Cornell Net Carbohydrate and Protein System). Com base em análises *in vitro* utilizando a metodologia descrita por Sniffen et al. (1992), onde a fração A corresponde ao nitrogênio não proteico, extraída pela solução de ácido tricloacético (TCA) a 10%, a fração B à proteína verdadeira, sendo B1 a de rápida degradabilidade extraída juntamente com a fração A pela solução de tampão borato-fosfato, mas não pela de TCA, B2 de degradabilidade intermediária, calculada pela diferença entre a proteína total e as demais frações e B3 de lenta degradabilidade, resultante da proteína presente no FDN e descontada da fração C que corresponde à proteína associada à parede celular, calculada pelo valor de nitrogênio insolúvel em detergente ácido, sendo uma fração indisponível ao animal. Nesse modelo cada fração possui uma taxa de degradabilidade (Kd) e a taxa de passagem (Kp) é definida pelo nível de consumo do animal. Os valores de PDR e PNDR são também obtidos por equações:

$$PDR = A + B1 [kdB1 / (kdB1 + kp)] + B2 [kdB2 / (kdB2 + kp)] + B3 [kdB3 / (kdB3 + kp)]$$

$$PNDR = B1 [kp / (kdB1 + kp)] + B2 [kp / (kdB2 + kp)] + B3 [kp / (kdB3 + kp)] + C.$$

O modelo NASEM (2021) trouxe grandes mudanças na forma de cálculo das frações PDR e PNDR dos alimentos. Nele passa-se a admitir que parte da fração A apesar de elevada taxa de degradação, escapa sem ser degradada. A taxa de passagem passa a ser considerada a fixa, com  $5,28 \pm 0,63\%$ /hora para concentrados e  $4,87 \pm 0,33$  para forragens. Essa mudança diminui a proporção de PNDR nos alimentos, e a proteína microbiana ganhou maior espaço na composição da PM.

Outras adequações no NASEM (2021) são modelos de exigências para AA essenciais, não mais de PM, e a predição da produção de proteína verdadeira no leite a partir do suprimento de energia da dieta (de fontes que não proteína) e do aporte de lisina, metionina, leucina, isoleucina, histidina, e total de AA essenciais. A eficiência com que os AA são usados passa a ser variável, e a

variação de cada termo dentro do modelo de predição é capaz de impactar o resultado. Dessa forma é abandonada a abordagem de AA limitante e das exigências e eficiências fixas, e a resposta passa a ser possível em arranjos quase infinitos dos fatores. Essa abordagem busca melhor descrever a complexidade biológica com que a vaca usa os nutrientes e deve permitir que as dietas possam ser formuladas para atender exigências, mas também menores custos e impacto ambiental no fornecimento de nutrientes.

Todos esses modelos buscam prever os a quantia de proteína que vai ser efetivamente degradada no rúmen, via fermentação e digestão por ação das proteases, peptidases e deaminases, por praticamente todos os microrganismos ruminais. Esses microrganismos utilizam peptídeos aminoácidos e amônia para a síntese de proteína microbiana e multiplicação celular. Quando a velocidade de degradação ruminal das proteínas excede a velocidade de utilização dos compostos nitrogenados para a síntese microbiana, o excesso de amônia produzida no rúmen atravessa a parede ruminal, entrando na circulação sanguínea e tecidos. A amônia excessiva é tóxica e precisa ser metabolizada a ureia pelo fígado para ser excretada via urina e leite (HUTJENS, 2018; ISHLER; HEINRICHS; VARGA, 1996; SANTOS; PEDROSO, 2011).

A extensão com que a PDR é convertida a proteína microbiana era considerada como uma proporção de 13% do NDT (NRC, 2001). No entanto o NDT conta também o valor de gordura e da proteína não degradável no rúmen, nutrientes não utilizados pelos microrganismos ruminais e isso traz erros a estimativa. Outros modelos passaram a aperfeiçoar essa imperfeição, aplicando fatores de desconto quando energia não fermentável passa a ter maior peso dentro da dieta (NASEM, 2016). O modelo NASEM (2021) passa a calcular a PMic a partir do amido e FDN degradados no rúmen. Outro fator é a quantidade de N que os microrganismos ruminais necessitam para formar proteína, ou da eficiência e transferir o N da PDR para a PMic, o NRC (2001) traz uma eficiência de 90%, ou seja, que 1 unidade de PMic exige 1,18 unidade de PDR quando a energia oriunda de substratos fermentáveis não é limitante (NASEM, 2021; NRC, 2001).

A proteína que escapa da degradação ruminal é a fração PNDR. A mudança na forma de os modelos determinarem a PDR afeta a PNDR por ser a fração complementar. Essa proteína é variável na sua composição de AA e isso

é um ponto de atenção quando da formulação de dietas considerando AA para as vacas (NRC, 2001; SANTOS; PEDROSO, 2011).

Quando fontes de proteína com AA em composição favorável estão disponíveis, processos de aquecimento ou tratamento químico podem ser utilizados com o objetivo de proteger essas fontes da degradação ruminal e elevar a fração PNDR do alimento (SCHWAB; BRODERICK, 2017).

### **Proteína Metabolizável (PM)**

A PM é definida como a proteína verdadeira digerida no intestino, sendo a soma da proteína verdadeira digestível da PMic e da proteína digestível da PNDR (NASEM, 2021; NRC, 2001). A PMic formada era considerada como 80% proteína verdadeira e dessa 80% considerada como digestível, gerando uma eficiência de conversão da PMic em PM de 64% (NRC, 2001). A atualização do modelo passou a contar com um valor maior para o teor de proteína verdadeira na PMic, elevando para 82,4% e mantendo a digestibilidade de 80%, assim a eficiência de conversão da PMic em PM passa a ser de 65,9% (NASEM, 2021). Para a fração PNDR, o tipo de alimento implica na digestibilidade, que pode variar de 50 a 100% da proteína (NASEM, 2021; NRC, 2001).

Todas estas determinações e estimativas feitas pelos modelos nutricionais buscam predizer, a partir de dados do animal e da dieta, qual o nível de atendimento dos AA requeridos pelo animal.

## **EFEITOS DA PROTEÍNA NA DIETA DE VACAS EM LACTAÇÃO CONSUMINDO PASTAGENS**

O adequado suprimento de proteína para vacas em lactação é fundamental, tendo em vista o custo da proteína na dieta e a relação que a proteína ou suas frações possuem com outros nutrientes ou entidades nutricionais como a FDN (NASEM, 2021; NRC, 2001).

O aporte de níveis entre 10 a 12% de PDR na dieta de vacas em lactação é sugerido para que não ocorra limitação de nitrogênio aos microrganismos ruminais, que poderia levar a menor degradação da fração FDN e queda no

consumo (NASEM, 2021). A degradação da PDR e agregação do nitrogênio na forma de proteína microbiana responde pela maior parte da PM e pode atender completamente animais de menor produção (NRC, 2001).

Tipicamente, para vacas consumindo pastagens com moderada suplementação de concentrado, as dietas aportam suficiente ou excessivas quantidades de PDR, dada a composição do pasto e a alta degradabilidade da proteína nele presente (VAN VUUREN; VAN DEN POL, 2006). Assim o aumento nos níveis de proteína (de alta degradabilidade ruminal), fornecidos via concentrado não melhoram o desempenho de vacas em lactação consumindo pastagens de clima temperado (HYNES et al., 2016) ou tropical (DANES et al., 2013b; FRANÇA, 2017; SEMMELMANN et al., 2008).

À medida que cresce a produção de leite, a demanda por nutrientes aumenta e a proteína microbiana pode não ser capaz de fornecer suficiente PM, sendo necessário ao animal AA oriundos diretamente do alimento. Esses AA são supridos pela fração da dieta inerte no rúmen, que engloba a PNDR dos alimentos e AA sintéticos que podem ser suplementados (HUTJENS, 2018; NRC, 2001). As vacas não possuem exigência por proteína, mas sim por AA, então a composição da fração PNDR e a disponibilidade intestinal dos AA, são determinantes na resposta a suplementação (HUHTANEN; HRISTOV, 2009). Para animais em confinamento apenas a farinha de peixe e proteína protegida oriunda de soja são apontadas como candidatas a respostas favoráveis quando substituindo farelo de soja convencional.

Para vacas em pastagens, um dos primeiros trabalhos investigando a suplementação de proteína protegida foi realizado na Austrália, há quase 5 décadas. Nesse trabalho, a suplementação de 1 kg/vaca/dia de caseína tratada com formaldeído para vacas Jersey em pastagem tropical (PB = 20%), resultou em aumento de 20% na produção de leite (+3,3 kg/dia), apesar do alto valor de PB da pastagem (STOBBS; MINSON; MCLEOD, 1977).

Em pastagens com predomínio de *Dactylis glomerata* (FDN = 46,2% e PB = 14,9%), a suplementação de concentrado com farinha de sangue em substituição a farelo de soja para vacas em início de lactação aumentou a produção de leite (29,3 vs. 24,9 kg/dia). Segundo os autores, o aumento no consumo de forragem (17,19 vs. 13,17 kg/dia de MS), foi uma resposta a melhoria no perfil de AA da PM. Já em pastagens da mesma espécie, porém

com níveis de PB ao redor de 25%, para vacas em início de lactação recebendo 9 kg/dia de matéria seca de concentrado de alta ou baixa PNDR, a produção de leite não diferiu (Baixa PNDR = 34,2 vs. Alta PNDR = 35,5 kg/dia) (HONGERHOLT; MULLER, 1998).

Outros estudos relatam aumentos na produção de leite pela adição farelo de soja protegido na dieta de vacas pastejando gramíneas temperadas (DELAGARDE; PEYRAUD; DELABY, 1999; DINEEN et al., 2021). No entanto, esses estudos não possuem grupos controle com a suplementação com fontes ricas em PDR.

Para vacas em ambiente tropical ou subtropical, um estudo avaliou a suplementação de concentrado a base de milho grão (6 kg/vaca/dia de matéria natural) com 0, 4 ou 8% farinha de peixe para vacas Jersey pastejando quicuio (*Pennisetum clandestinum* FDN = 60% e PB = 22%), onde o maior nível de farinha de peixe resultou em aumento de 1,3 kg/dia de leite, porém o consumo não foi avaliado (MALLESON et al., 2009).

Vilela et al. (2003) fornecendo concentrado com grão de soja tostado em comparação a um concentrado com farelo de soja convencional, encontraram aumento de 2,4 kg/dia de leite para vacas Holstein pastejando Coastcross-1 (*Cynodon dactylon* PB = 12%). No entanto, este estudo não conseguiu isolar o efeito do óleo presente no grão de soja, e diferenças de peso entre os grupos não foram balanceadas ( $\Delta$  80 kg).

Já em um estudo com vacas Holstein x Gyr, em pastagens de capim Mombaça (*Panicum maximum* FDN = 67% e PB = 16%), produzindo 35 kg/dia de leite e suplementadas com 13 kg/vaca/dia de matéria seca de concentrado, a substituição de 1,5 kg de farelo de soja por farelo de soja protegido resultou em 1,2 kg/dia a mais de leite (MALACCO et al., 2021).

França (2017), comparando a suplementação com concentrados contendo 21% de PB, contendo farelo de soja convencional ou farelo de soja protegido para vacas Jersey em início de lactação, em pastagens de Missioneira Gigante (*Axonopus catharinensis*, FDN = 58,3% e PB = 20%), verificou aumento de 2 kg/dia de leite para as vacas recebendo concentrado com farelo de soja protegido. Porém, nesse estudo o consumo foi estimado pela energia da dieta e não diretamente medido.

De modo geral, as respostas em desempenho produtivo da suplementação de fontes de PNDR para vacas em pastejo nos experimentos citados, são creditadas a melhoria no suprimento de AA, especialmente aqueles considerados mais limitantes. No entanto, estudos com a infusão de AA ou de caseína relatam que o maior aporte de AA pode resultar em melhoria no desempenho produtivo não apenas pela simples correção de deficiências. Dentre os efeitos propostos, temos o papel de doador de grupo metil para a metionina (MCFADDEN et al., 2020) e o de alguns AA ou grupos deles, como estimulantes de vias metabólicas celulares (DANES et al., 2020; YODER et al., 2020).

Em um trabalho de metanálise avaliando a resposta a infusão de pós-ruminal de caseína, Lapierre et al. (2010), mostra que o aumento no aporte de AA tem efeito positivo sobre a produção de proteína, lactose e volume de leite. O maior aporte de AA tem efeito estimulante sobre o alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR), especialmente de AA de cadeia ramificada (FLYNN; SHAW; BECKER, 2020). O mTOR regula o crescimento, proliferação, motilidade, sobrevivência, síntese proteica, autofagia e transcrição celular, através da maior expressão de IGF-1 (DANES et al., 2020; OSORIO; LOHAKARE; BIONAZ, 2016; WANG et al., 2014; YODER et al., 2020).

Atualmente parte deste conhecimento já é agregado no modelo NASEM (2021), que prevê a produção de proteína do leite pelos aportes de lisina, metionina, leucina, isoleucina, histidina e outros AA essenciais, além de energia da dieta, abandonando a abordagem de eficiência fixa de uso dos AA, assim como o conceito de AA mais limitante. No entanto a dimensão destes efeitos de AA sobre mTOR, bem como a mediação de seus efeitos via IGF-1 ainda não são totalmente compreendidas.

## **SOMATOTROPINA**

Para esta revisão, é utilizado o termo somatotropina (ST), referindo-se a secretada pelo próprio organismo. Para a fonte suplementar e comercial utilizada pelas vacas leiteiras o termo utilizado é somatotropina bovina recombinante (rBST), apesar de parte da literatura de antes da década de 1980 ser construída

com a suplementação de ST extraída da hipófise de bovinos abatidos (BAUMAN, 1999).

A ST é um hormônio proteico com efeitos regulatórios sobre o metabolismo e a partição dos nutrientes absorvidos refletindo no seu uso para a lactação ou crescimento. Ela é sintetizada pela glândula pituitária anterior e considerada a principal moduladora do crescimento e produção de leite (GÜLAY; PO, 2005; NRC, 2001). Além da somatotropina endógena, essa molécula pode ser suplementada a vacas leiteiras e seu efeito é conhecido desde a década de 1920 e comprovado na década de 1930 (ASIMOV; KROUZE, 1937). Porém, seu uso somente passa a ser possível em larga escala com o advento da produção por tecnologia recombinante de rBST, permitindo que mais estudos possam ser conduzidos. A produção de formulações de liberação gradual permitindo a aplicação com ação mais longa também viabilizou seu uso no campo (BAUMAN, 1999; FESSEHA; ALIYE; TEMESGEN, 2019).

A ação da ST/rBST é mediada principalmente pelo fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1 (IGF-1), também denominado somatomedina C. O IGF-1 é uma molécula proteica com estrutura similar a insulina, que coordena o crescimento em animais jovens e processos anabólicos em adultos. O principal sítio de produção do IGF-1 é o fígado, mas outros tecidos de elevada taxa de síntese/anabolismo também produzem e expressam em resposta a presença de ST.

Em vacas, a rBST age em diversos tecidos-alvo. De modo geral ela diminui o aporte de glicose aos tecidos e a oxidação de aminoácido como fonte de energia. Nos adipócitos a ação causa mudanças na forma como a célula interpreta sinais endócrinos resultando na diminuição do efeito da insulina e reduzindo a disponibilidade de glicose e acetato. Em vacas com balanço positivo de energia, os adipócitos diminuem a lipogênese; já em vacas com balanço negativo a lipólise é estimulada, resultando ambas no aumento do aporte de energia para a vaca. Nos hepatócitos ela coordena o aumento na taxa de gliconeogênese. Na glândula mamária ocorre o aumento no aporte de glicose e na síntese de lactose e leite, aumento na utilização de ácidos graxos não esterificados para a síntese de gordura do leite e de aminoácidos para a síntese de proteína do leite. Outro efeito marcante da ST se baseia no aumento do débito cardíaco e um aumento no fluxo sanguíneo direcionado a glândula mamária

(BAUMAN, 1999; BAUMAN et al., 2004; ETHERTON; BAUMAN, 1998; FESSEHA; ALIYE; TEMESGEN, 2019; PEEL; BAUMAN, 1987).

A rBST no tecido mamário também aumenta a atividade de enzimas que atuam abaixo de sua capacidade máxima, como a lactose sintetase (SHIBRU, 2016). A suplementação de rbST não muda a digestibilidade da MS, energia ou proteína, muito menos a utilização de energia para manutenção ou ainda a eficiência energética da síntese do leite. No entanto, a eficiência geral para a produção de leite é aumentada uma vez que o gasto com manutenção passa a ser proporcionalmente menor. Em nível da glândula mamária, o principal efeito é mediado pelo IGF-1, que diminui a apoptose das células secretoras, aumenta a proliferação e como já comentado, aumenta o aporte de substratos e a atividade de síntese celular (BREIER; SAUERWEIN, 1994; NRC, 2001; SHIBRU, 2016).

A suplementação continuada de rBST aumenta o consumo de alimentos para atender a demanda de nutrientes. Em geral é relatado que esse efeito ocorre poucas semanas após o início da suplementação (CAPUCO; AKERS, 2011), mas períodos de 6 a 8 semanas são relatados (CHILLIARD, 1988). Esse aumento ajusta o consumo a níveis similares aos reportados para vacas de mesmo status fisiológico e produzindo a mesma quantia de leite sem a suplementação de rBST, fazendo da rBST um importante mecanismo de aumento na eficiência (BAUMAN, 1999).

Como vacas recém-paridas já possuem níveis altos de ST circulante e um consumo de alimentos e capacidade de mobilização de reservas limitado, a aplicação de rBST nas doses comerciais não traz benefícios e pode comprometer sua saúde (GÜLAY; PO, 2005). O uso de ST ganha espaço a partir de 8 a 10 semanas pós-parto, quando se espera que vacas estejam atingindo o pico de produção de leite e próximas ao pico de ingestão de alimentos (FESSEHA; ALIYE; TEMESGEN, 2019).

A resposta em produção da suplementação com rBST varia com a dose, com a máxima produção (+4 a 6 kg/dia) sendo atingida ao redor de 40 mg/dia de rBST (CAPUCO; AKERS, 2011). O estágio de lactação das vacas (vacas próximo do pico de consumo), melhor conforto e alimentação e além potencial genético (vacas geneticamente superiores respondem mais a suplementação) também interferem na resposta (BAUMAN, 1999; FESSEHA; ALIYE; TEMESGEN, 2019). A suplementação em rebanhos comerciais, alimentados

com dietas completas, recebendo a aplicação de 500 mg a cada 14 dias produz respostas variando de +3 a +6 kg/dia de leite (NRC, 2001).

A composição do leite de vacas suplementadas com rBST pode mudar mais drasticamente em períodos curtos de suplementação e para vacas em balanço energético negativo, como resultado do curso das adaptações metabólicas mais agudas. Para vacas em balanço energético positivo, a suplementação não implica em alterações na composição, propriedades físico-químicas, ou características organolépticas além da variação encontrada no leite de vacas não suplementadas (BAUMAN, 1999; CAPUCO; AKERS, 2011).

A suplementação de rBST nas doses comerciais, não implica em maiores riscos de saúde, ou mesmo falhas reprodutivas que aquelas observadas para vacas que produzem de forma similar sem a suplementação (ST-PIERRE et al., 2014). Também a aprovação dos produtos comerciais contou com inúmeros estudos sobre a segurança do leite produzido, encontrados de forma detalhada em um estudo encomendado pela Organização Mundial da Saúde (GHIMIRE et al., 2014).

Apesar do discorrido, a produção de leite como atividade econômica deve atender em última ordem ao consumidor, sua capacidade e desejo de consumo. A suplementação com rBST gera desconfiança de parte dos consumidores que passam a associar o leite de rebanhos suplementados com uma menor qualidade ou um produto menos saudável (WOLF; TONSOR; OLYNK, 2011). Com isso em alguns mercados, como o europeu, a suplementação de rBST não é aprovada, apesar de a importação de produtos de países onde haja uso de rBST não seja proibida por esse motivo (BRINCKMAN, 2001). Em outros mercados, como o americano a percepção negativa dos consumidores quanto a rBST tem feito grande parte dos produtos passarem a ser “rBST-free”, onde o produtor se compromete a não usar rBST, sob pena de não compra do leite (GRANT, 2015; MILLER, 2007).

A possibilidade de que em breve o uso de rBST venha a ser banido, ou economicamente desestimulado existe e merece atenção. A melhoria nas condições de alimentação, conforto, associados aos crescentes ganhos genéticos bem como o uso de outras ferramentas são possibilidades de resposta a esse cenário (DAIRY HERD MANAGEMENT, 2016).

## **HIPÓTESE**

A suplementação de somatotropina ou de proteína não degradável no rúmen, aumentam o desempenho produtivo em vacas consumindo pastagens, suportado pelo aumento de consumo. O aumento no desempenho produtivo pela suplementação com o farelo de soja protegido está associado a aumentos no consumo, de forma similar ao ocorrido com o uso de somatotropina bovina recombinante, podendo uma suplementação ser opção a outra.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do da substituição de farelo de soja convencional por farelo de soja protegido, aumentando a participação da proteína não degradável no rúmen dentro da proteína metabolizável pela mudança na fonte de proteína sobre o metabolismo, consumo de alimentos, produção e qualidade do leite, em vacas consumindo pastagens com ou sem suplementação de somatotropina bovina recombinante.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a resposta à suplementação com diferentes fontes de proteína de soja.

Avaliar o desempenho produtivo de vacas suplementadas com somatotropina bovina recombinante para vacas consumindo pastagens.

Avaliar o consumo de pastagem colhida por vacas lactantes confinadas.

Avaliar os indicadores de metabolismo (glicose, proteína sérica total, albumina, globulinas e ácidos graxos não esterificados) em vacas consumindo pastagens com diferentes tipos de proteína de soja, com ou sem suplementação de somatotropina bovina recombinante.

Avaliar o potencial do farelo de soja protegido como uma das alternativas à suplementação com somatotropina bovina recombinante para melhorar o desempenho produtivo de vacas consumindo pastagens.

## **ARTIGO 1 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE PROTEÍNA NÃO DEGRADÁVEL NO RÚMEN COM OU SEM SOMATOTROPINA BOVINA PARA VACAS LEITEIRAS CONSUMINDO PASTAGEM ANUAL DE INVERNO**

### **RESUMO**

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito do aumento da fração de proteína não degradável no rúmen dentro da proteína metabolizável pela mudança na fonte de proteína (farelo de soja protegido (Soypass BR®, Cargill - pSBM - em substituição ao farelo de soja convencional - SBM) associados ou não à suplementação com somatotropina bovina recombinante (rBST, Lactotropin®, União Química) sobre o metabolismo, consumo de alimentos, produção e qualidade do leite em vacas recebendo suplementação concentrada e forragem de azevém colhida. Foram conduzidos dois experimentos no Setor de Bovinocultura de Leite do CAV/UDESC, utilizando vacas Holstein e Holstein x Jersey confinadas recebendo concentrado e pastagem colhida de azevém anual fornecido à vontade. Os concentrados eram compostos por 27% de farelo de soja no primeiro experimento e 33% no segundo (convencional ou protegido, conforme o tratamento) e a aplicação de rBST era realizada a cada 12 dias, na dose de 500 mg. Para o primeiro experimento, 15 vacas foram utilizadas, com o fornecimento de 12 kg de concentrado/dia em 3 tratamentos: SBM+rBST, pSBM e pSBM+rBST. No segundo experimento foram utilizadas 16 vacas em um esquema fatorial 2 x 2 (tipo de farelo de soja e a suplementação ou não com rBST), recebendo 6 kg de concentrado. Todos os experimentos foram em ensaio contínuo, em blocos casualizados e tiveram duração de 6 semanas, com 2 para adaptação aos tratamentos e 4 de coleta. Foram avaliados a produção, composição e características físico-químicas do leite, consumo alimentar, escore de condição corporal, peso vivo e níveis séricos de proteínas totais, albumina, globulinas, glicose e ácidos graxos não esterificados (AGNE). Os dados foram submetidos a análise de variância, com medidas repetidas no tempo. No primeiro experimento, a suplementação com rBST aumentou a produção de leite em 2,9 kg/vaca/dia bem como as produções diárias de caseína e lactose. No segundo experimento, a suplementação com rBST aumentou a produção de leite em 3,2 kg/vaca/dia, juntamente das produções diárias de gordura, proteína e lactose. Não houve diferenças significativas no consumo de alimentos para os

tratamentos de ambos os experimentos, bem como para as variáveis de perfil metabólico, a exceção do nível sérico de AGNE, que foi maior para as vacas recebendo pSBM+rBST no primeiro experimento. Vacas confinadas, no terço final da lactação, recebendo forragem colhida de azevém respondem a suplementação com rBST, sendo a suplementação com SBM suficiente para suportar a produção de leite.

**Palavras chave:** forragem colhida, azevém, forragem de gramínea anual de inverno

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of the greater contribution of rumen undegradable protein into the metabolizable protein by the change in the protein source (protected soybean meal (Soypass BR®, Cargill - pSBM - in place of soybean meal - SBM) associated or not with somatotropin supplementation Recombinant bovine (rBST, Lactotropin®, União Química) on metabolism, feed consumption, production and milk quality in cows receiving concentrated supplementation and harvested ryegrass forage. Two experiments were carried out in the dairy cattle sector of CAV/UDESC, using confined Holstein and Holstein x Jersey cows receiving concentrate and pasture harvested from annual ryegrass supplied ad libitum. The concentrates were composed of 27% soybean meal in the first experiment and 33% in the second (conventional or protected, depending on the treatment) and rBST was applied every 12 days at a dose of 500 mg. For the first experiment, 15 cows were used, with the supply of 12 kg of concentrate/day in 3 treatments: SBM+rBST, pSBM, and pSBM+rBST. In the second experiment, 16 cows were used in a 2 x 2 factorial scheme (type of soybean meal and supplementation or not with rBST), receiving 6 kg of concentrate. All experiments were in a continuous trial, in randomized blocks, and lasted 6 weeks, with 2 for adaptation to treatments and 4 for collection. Milk production, composition, and physicochemical characteristics, food consumption, body condition score, live weight, and serum levels of total proteins, albumin, globulins, glucose, and non-esterified fatty acids (NEFA) were evaluated. Data

were submitted for analysis of variance, with repeated measures over time. In the first experiment, rBST supplementation increased milk production by 2 kg/cow/day as well as daily production of casein and lactose. In the second experiment, rBST supplementation increased milk production by 3.2 kg/cow/day, along with daily production of fat, protein, and lactose. There were no significant differences in feed intake for the treatments of both experiments, as well as for the metabolic profile variables, except for the serum level of NEFA, which was higher for cows receiving pSBM+rBST in the first experiment. Feedlot cows, in the final third of lactation, receiving forage harvested from ryegrass respond to rBST supplementation, with SBM supplementation being sufficient to support milk production.

**Keywords:** harvested forage, ryegrass, annual winter grass forage, intake.

## INTRODUÇÃO

A alimentação de vacas em lactação representa cerca de 50% do custo da atividade (BACH; TERRÉ; PINTO, 2013) e a proteína é um dos nutrientes de maior custo para vacas em confinamento, enquanto para vacas consumindo pastagens bem manejadas as dietas geralmente são ricas em proteína bruta (JACOBS, 2014; KOLVER, 2003). Tipicamente, essas dietas contêm quantias adequadas ou até excessivas de proteína degradável no rúmen (PDR) e muitas vezes deficientes em proteína não degradável no rúmen (PNDR), o que pode levar a um balanço negativo de proteína metabolizável (PM) (NRC, 2001).

O aumento de PM na dieta de vacas leiteiras consumindo pastagens de clima temperado pela suplementação de fontes de proteína com elevada proporção de PNDR melhora o desempenho produtivo, sendo sugerido o efeito positivo da melhor relação de AA na PM (DINEEN et al., 2021; SCHOR; GAGLIOSTRO, 2001). Porém, na última década, o suprimento de AA e a forma como eles impactam a produção de leite vem sendo revisados, para melhor ajustar os modelos nutricionais (NASEM, 2021). O aumento no aporte de alguns AA para vacas tem respostas consistentes no aumento da produção de gordura e proteína do leite e de lactose além das esperadas, pela simples correção das

deficiências ou mesmo em dietas deficientes em outros AA ou energia (LAPIERRE et al., 2010b). O aumento no desempenho produtivo, é suportado por trabalhos que mostram que as vacas podem aumentar a eficiência de captação de alguns substratos (DANES et al., 2020; YODER et al., 2020), e também que alguns AA podem exercer sinalização sobre a taxa metabólica celular, e no aumento da capacidade de síntese mediada pelo estímulo no alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR), e ainda no aumento dos níveis locais e circulantes de fator de crescimento semelhante a insulina tipo-1 (IGF-1) (FLYNN; SHAW; BECKER, 2020; OSORIO; LOHAKARE; BIONAZ, 2016; WANG et al., 2014).

Atualmente, a somatotropina bovina recombinante (rBST), um aditivo conhecido e amplamente utilizado, tem efeitos conhecidos, aumentando a circulação de IGF-1, o que aumenta a taxa metabólica celular, o aporte sanguíneo na glândula mamária e a produção de leite e componentes (FESSEHA; ALIYE; TEMESGEN, 2019). Os nutrientes adicionais necessários são supridos principalmente por mecanismos homeorréticos no início da suplementação, como a oxidação de ácidos graxos para poupar glicose e o uso de mais substratos para a gliconeogênese. Em poucas semanas, é esperado um aumento no consumo, e consequente aumento no aporte de nutrientes para suportar a produção (BAUMAN, 1999; DE MORAIS et al., 2017; ST-PIERRE et al., 2014).

Apesar de a rBST ser utilizada desde a década de 1990 para vacas a partir da oitava semana de lactação, os termos somatotropina ou hormônio do crescimento causam percepção negativa nos consumidores (WOLF et al., 2016a) e seu uso não é permitido em alguns países e em outros vem decaindo por pressão dos consumidores (BRINCKMAN, 2001; DAIRY HERD MANAGEMENT, 2017). Isso leva a considerar que em breve, produtores e técnicos possam precisar contornar a ausência ou limitação de uso desse aditivo. A mediação do efeito tanto da rBST, quanto de alguns AA sobre o IGF-1 e as respostas produzidas abrem caminho para investigar a possibilidade de que um possa vir a substituir o outro, ou se a ação ocorre independentemente.

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da maior participação da proteína não degradável no rúmen dentro da proteína metabolizável pela mudança na fonte de proteína (farelo de soja protegido em substituição ao farelo

de soja), associados ou não à suplementação com somatotropina bovina recombinante sobre o metabolismo, consumo de alimentos, produção e qualidade do leite em vacas recebendo suplementação concentrada e forragem de azevém colhida.

## MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos para a realização dos experimentos foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade do Estado de Santa Catarina sob número CEUA nº 3807070519 (ID 000904).

### **Animais, alojamento e duração**

Foram conduzidos dois experimentos no Setor de Bovinocultura Leiteira do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina em Lages – SC (Latitude 27°47'6.54" Sul e longitude 50°18'16.91" Oeste). O primeiro foi realizado durante a primavera de 2019 (04 de outubro a 18 de novembro) e o segundo durante a primavera de 2020 (06 de setembro a 26 de outubro de 2020). Ambos os experimentos tiveram duração de 6 semanas, com duas semanas iniciais de adaptação aos tratamentos e 4 semanas de coletas.

No experimento 1 foram utilizadas 15 vacas e Holstein x Jersey ( $28,6 \pm 5,05$  kg/dia de leite,  $3,5 \pm 1,36$  partos,  $614 \pm 60$  kg de peso vivo e DEL de  $219 \pm 142$  d ao início e  $242 \pm 142$  d na média do experimento). As vacas foram distribuídas em blocos conforme o grupamento genético (ou Holstein x Jersey), ordem de parto e produção de leite, sendo então alocadas a um dos três tratamentos.

O experimento 02 envolveu 16 vacas vacas Holstein e Holstein x Jersey ( $25,6 \pm 6,42$  kg/dia de leite,  $2,7 \pm 2,3$  partos,  $524 \pm 61$  kg de peso vivo e DEL de  $182 \pm 88$  d ao início e  $205 \pm 88$  d na média do experimento). As vacas foram distribuídas em blocos conforme o grupamento genético (Holstein ou Holstein x Jersey), ordem de parto e produção de leite, sendo então alocadas a um dos quatro tratamentos.

Em ambos os experimentos, as vacas foram alojadas em confinamento do tipo *tie stall* (Figura 1 e Figura 2), com cama de serragem ou palha, conforme a disponibilidade. As camas eram limpas e repostas 2 vezes ao dia, enquanto as

vacas estavam sendo ordenhadas. Após cada limpeza e reposição, a cama recebia cal hidratada para desinfecção. As baías possuíam cocho individual para alimento e bebedouro compartilhado por duas vacas. O manejo de luz artificial dentro do galpão foi de no mínimo 15 horas de luz, com a iluminação ligadas às 07:00 e desligada às 22:00 horas. A ordenha era realizada duas vezes ao dia, às 07:00 e às 15:00 horas, em sala de ordenha tipo espinha de peixe 2 x 4.



Figura 1. Fotos do experimento 01. **A**: vista da área experimental de cultivo de azevém. **B**: vacas alojadas em sistema Tie-Stall. **C**: detalhe da cama de palha. **D**: vacas alojadas em cama de serragem.

### Tratamentos e alimentação

No experimento 1 foram estabelecidos três tratamentos: **pSBM** onde as vacas recebiam apenas concentrado com farelo de soja protegido (pSBM); **SBM+rBST** onde recebiam concentrado com farelo de soja convencional (SBM) e suplementação com somatotropina bovina recombinante (rBST) com aplicação subcutânea de uma dose de 500 mg de sometribove zinco (Lactotropin<sup>®</sup>, União Química) a cada 12 dias; e **pSBM+rBST** concentrado com farelo de soja protegido (pSBM) e suplementação com somatotropina bovina recombinante (rBST). As vacas do primeiro tratamento (pSBM) receberam solução salina de

NaCl a 0,9% por via subcutânea no mesmo dia em que as demais vacas recebiam rBST.



Figura 2. Fotos do experimento 02. **A e B**: corte da pastagem no período prévio ao experimento. **C**: vaca consumindo forragem fresca. **D**:Corte de forragem no período experimental **E**: Vista das vacas no galpão

No experimento 2 foram estabelecidos 4 tratamentos, em delineamento fatorial 2x2. Os fatores foram o tipo de farelo de soja: 2 kg/vaca/dia de farelo de soja convencional (**SBM**), ou 2 kg/vaca/dia de farelo de soja protegido (**pSBM**, Soypass BR®, Cargill), misturados em um total de 6 kg de matéria natural de concentrado; e a suplementação ou não com somatotropina bovina recombinante (**rBST**) com aplicação subcutânea de uma dose de 500 mg de sometribóve zinco (Lactotropin®, União Química) a cada 12 dias. As vacas não suplementadas com rBST receberam 2 mL de solução salina 0.09% de NaCl por via subcutânea no mesmo dia da administração de rBST ao grupo suplementado. Ambos os experimentos foram ensaios contínuos. A duração dos experimentos foi de 48 dias, compreendendo 4 ciclos de aplicação de rBST. Ao longo do

período de lactação anterior aos experimentos, nenhuma das vacas recebeu suplementação com rBST.

As vacas eram alimentadas a base de forragem de azevém anual (cv. WinterStar 3® PGW do Brasil). A área de cultivo do pasto foi a mesma para ambos os experimentos (Figura 1 e Figura 2), com uma área de 5,3 ha, implantada em março/2019 e abril/2020 após cultivo de milho silagem. Não foram realizados pastejos com animais ou aplicação de dejetos na área, para não haver efeito negativo sobre o consumo de forragem colhida por animais confinados (BAUMONT; CHENOST; DEMARQUILLY, 2004). Antes do início dos experimentos, a forragem produzida foi colhida e servida ao rebanho, para manter o crescimento e evitar senescênci a e perda de qualidade do pasto. Durante o período experimental, a forragem era cortada duas vezes ao dia (manhã e tarde), com colhedora de forragem (Taarup®), tipo “flail” que lacera a forragem em pedaços não menores que 10 cm (Figura 1 Figura 2). A forragem era acondicionada em carroça e levada até o galpão.

As composições (ingredientes e composição bromatológica) dos concentrados e da pastagem ofertada no experimento 1 são apresentadas na Tabela 1, e para o experimento 2, na Tabela 3. As estimativas do balanço de proteína, usando como base os valores médios de cada grupo experimental a partir do modelo NRC (2001) são apresentadas na Tabela 2 para o experimento 1 e na Tabela 4 para o experimento 2.

O fornecimento dos concentrados foi sempre feito a parte da forragem (não misturado), de modo que o consumo fosse total. No experimento 1, a ocorrência de uma estiagem prolongada durante o inverno e primavera de 2019 interferiram na produção do pasto, com pior qualidade e disponibilidade do pasto. Em virtude disto foram fornecidos 12 kg de concentrado por vaca/dia, divididos em 4 refeições, sendo após a ordenha da manhã, ao meio dia, após a ordenha da tarde e às 18:00 horas, 3 kg por trato.

Tabela 1. Composição dos concentrados e composição bromatológica da forragem fornecida e dos concentrados no experimento 1.

Item	Pastagem fornecida	Concentrados	
		SBM	pSBM
Ingrediente, % da MS			
Milho moído		69,3	69,2
Farelo de soja		27,3	-
Soypass BR®		-	27,4

Núcleo mineral/vitamínico	3,4	3,4
Composição nutricional		
MS, %	39,5	86,81
PB, % da MS	12,53	20,95
MM, % da MS	11,22	6,49
EE, % da MS	1,53	2,24
FDN, % da MS	62,05	8,57
FDA, % da MS	34,44	3,02
Lignina, % da MS	3,86	2,73
Ca, % da MS	0,4	0,84
P, % da MS	0,29	0,53
ELI, Mcal/kg de MS	1,12	2,00

<sup>1</sup>SBM = concentrado a base de farelo de soja convencional.

<sup>2</sup> Soypass BR, Cargill. Níveis de garantia: 54% PB, Proteína degradável no rúmen (máx.) 40% da PB, Proteína não degradável no rúmen (mín.) 60% da PB.

<sup>3</sup> Níveis por quilograma do produto: 230 g Ca, 30 g P, 16 g S, 42 g Mg, 90 g Na, 36 mg Co, 475 mg Cu, 2400 mg Zn, 1980 mg Mn, 40 mg I, 13,3 mg Se, 480 mg monensina sódica, 240.000 UI vit. A, 72.000 UI vit. D3 e 1150 UI vit. E.

<sup>4</sup> Calculado a partir do NRC (2001), usando a análise bromatológica dos alimentos e dados médios dos animais em cada tratamento.

No experimento 2, foram fornecidos 6 kg/vaca/dia em duas refeições após as ordenhas. Em ambos os experimentos, forragem era servida após o concentrado, pela manhã e tarde, mas também sempre que as vacas tivessem pequena quantidade, de modo que as sobras fossem ao redor de pelo menos 15% da oferta (com base na matéria natural) (BAUMONT; CHENOST; DEMARQUILLY, 2004).

A forragem oferecida era diariamente pesada e amostrada para teor de MS. As sobras eram recolhidas diariamente, pela manhã e pesadas e amostradas para matéria seca, para cálculo posterior de consumo.

Tabela 2. Estimativas de suprimento e balanço de proteína das dietas do experimento 1, segundo a composição bromatológica e dados médios de tratamentos no modelo NRC (2001).

Item	Tratamentos <sup>1</sup>		
	pSBM	SBM+rBST	pSBM+rBST
CMS, kg/dia	25,1	26,1	26,2
CMS predito NRC, kg/dia	19,1	20,2	20,2
PB dieta, % da MS	16,1	15,8	16,0
PDR dieta, % da MS	8,1	10,6	8,1
PNDR dieta, % da MS	8,0	5,2	7,9
PDR suprida, kg/dia	2,032	2,774	2,128
PDR balanço, kg/dia	-0,352	0,310	-0,348
PNDR suprida, kg/dia	2,003	1,362	2,050
PNDR balanço, kg/dia	1,255	0,591	1,110
PM - Microbiana, kg/dia	1,110	1,343	1,156

PM- PNDR, kg/dia	1,772	1,169	1,813
PM - Endógena, kg/dia	0,118	0,575	0,123
PM balanço, kg/dia	1,109	0,505	0,978

<sup>1</sup> pSBM= farelo de soja protegido; SBM+rBST= farelo de soja convencional e somatotropina; e pSBM+rBST= farelo de soja protegido + somatotropina.

No experimento 2, também houve menor crescimento de pasto que o esperado em função de estiagem. Visando não encerrar o experimento, as vacas que ficaram estabuladas desde 4 dias antes do início dos tratamentos, durante o período de adaptação e até 4 dias após a primeira coleta, e então foram soltas em pastagens da mesma cultivar de azevém e seguiram recebendo os concentrados nas instalações do *tie-stall*. Para segunda e terceira coletas, as vacas foram estabuladas 3 dias antes da coleta e permaneceram estabuladas por 4 dias, sendo considerados para o consumo, a média do consumo de 3 dias por coleta (o primeiro dia de estabulação não foi considerado), incluindo o dia de coletas de sangue

Tabela 3. Composição dos concentrados e composição bromatológica da forragem fornecida e dos concentrados no experimento 2.

Item	Pastagem fornecida	Concentrados	
		SBM <sup>1</sup>	pSBM <sup>2</sup>
Ingrediente, % da MS			
Milho moído	60,7	60,7	
Farelo de soja	33,6		-
Soypass BR <sup>®2</sup>	-	33,6	
Núcleo mineral/vitamínico <sup>3</sup>	4,6	4,6	
Sal comum	1,1	1,1	
Composição nutricional <sup>3</sup>			
MS, %	21,6	87,60	87,63
PB, % da MS	16,09	23,45	23,79
MM, % da MS	11,25	9,11	9,14
EE, % da MS	1,62	1,77	1,60
FDN, % da MS	56,89	8,16	9,43

FDA, % da MS	31,07	3,06	3,45
Lignina, % da MS	3,37	0,00	0,03
Ca, % da MS	0,39	1,18	1,19
P, % da MS	0,35	0,54	0,56
ELI <sup>4</sup> , Mcal/kg de MS	1,26	2,05	2,07

<sup>1</sup>SBM= concentrado a base de farelo de soja convencional.

<sup>2</sup> Soypass BR, Cargill. Níveis de garantia: 54% PB, Proteína degradável no rúmen (máx.) 40% da PB, Proteína não degradável no rúmen (mín.) 60% da PB.

<sup>3</sup> Níveis por quilograma do produto: 230 g Ca, 30 g P, 16 g S, 42 g Mg, 90 g Na, 36 mg Co, 475 mg Cu, 2400 mg de Zn, 1980 mg de Mn, 40 mg de I, 13,3 mg de Se, 480 mg de monensina sódica, 240.000 UI de vit. A, 72.000 UI de vit. D3 e 1150UI de vit. E.

<sup>4</sup> Calculado a partir do NRC (2001), usando a análise bromatológica dos alimentos e dados médios dos animais em cada tratamento.

Tabela 4. Estimativas de suprimento e balanço de proteína das dietas experimentais no experimento 2, segundo a composição bromatológica e dados médios de tratamentos no modelo NRC (2001).

Item	Tratamento <sup>1</sup>			
	SBM	pSBM	SBM+rBST	pSBM+rBST
CMS, kg/dia	21,6	21,7	21,8	21,9
CMS predito NRC (2001), kg/dia	18,8	18,8	20,5	20,2
PB dieta, % da MS	17,9	17,9	17,8	17,9
PDR dieta, % da MS	12,5	10,6	12,5	10,6
PNDR dieta, % da MS	5,3	7,3	5,3	7,3
PDR suprida, kg/dia	2,687	2,200	2,729	2,031
PDR balanço, kg/dia	0,693	0,291	0,702	0,291
PNDR suprida, kg/dia	1,148	1690	1,17	1,601
PNDR balanço, kg/dia	0,357	0,802	0,156	0,639
PM - Microbiana, kg/dia	1,085	1,105	1,103	1,105
PM- PNDR, kg/dia	0,943	1,361	0,960	1,361
PM - Endógena, kg/dia	0,101	0,103	0,103	0,103
PM balanço, kg/dia	0,293	0,682	0,128	0,543

<sup>1</sup>SBM= farelo de soja convencional; pSBM= farelo de soja protegido; SBM+rBST= farelo de soja convencional e somatotropina; e pSBM+rBST= farelo de soja protegido+ somatotropina.

## Coletas e avaliações

Amostras da forragem fornecida e sobras de cada dia, e amostras do concentrado foram armazenadas secas e posteriormente agrupadas por ciclo de rBST no experimento 1 e por semana no experimento 2.

A produção de leite foi medida diariamente por medidores Waikato® Multi Meter. Para a avaliação dos componentes do leite, foram coletadas amostras de quatro ordenhas em sequência. Amostras de cada ordenha foram acondicionadas em recipientes com bronopol como conservante e enviadas ao Laboratório da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH) em Curitiba, PR, para realização das análises dos teores de gordura, proteína, lactose, caseína e nitrogênio ureico do leite (NUL). Para

análise das propriedades físico-químicas do leite uma amostra de leite foi colhida em duas ordenhas em cada semana e analisadas na forma de amostras conjuntas, sendo proporcionais ao volume de leite de cada ordenha. A frequência de coleta no experimento 1 foi a cada 12 dias, sempre iniciando no sexto dia após a aplicação da dose de rBST, já no experimento 2 a frequência foi semanal, visando aumentar o número de informações.

O escore de condição corporal foi determinado com escala de 1 a 5 (HUTJENS, 2018), semanalmente. No experimento 1, as vacas foram pesadas ao início e término do experimento, uma única vez em balança mecânica (Rinnert®). Por 3 dias consecutivos ao início e término do período experimental, após a ordenha da manhã as vacas foram pesadas em balança eletrônica (Filizola®). O ganho de peso total foi obtido pela diferença entre peso final e inicial. O ganho de peso diário foi o ganho total no período dividido pelo número de dias entre as pesagens.

A cada 12 dias, no sexto dia após a aplicação da dose de ST, 4 horas após o fornecimento de concentrado no turno da manhã, amostras de sangue foram coletadas por punção com tubo a vácuo dos vasos coccígeos. Após a coleta, as amostras foram mantidas refrigeradas e posteriormente centrifugadas para obtenção de plasma e soro, que foram armazenados a -20°C para posterior análise.

### **Análises Laboratoriais**

Amostras da pastagem foram coletadas diariamente para determinação de matéria seca. No experimento 1, as amostras acondicionadas em sacos de papel foram secas a 65°C em estufa de ar forçado e posteriormente moídas e secas a 105°C. No experimento 2, a matéria seca foi determinada após cada coleta, por secagem a 105°C por pelo menos 30 minutos ou até a massa ser constante em equipamento tipo air-fryer (WALLAU; VENDRAMINI, 2019).

Amostras dos alimentos concentrados foram coletadas semanalmente. As amostras de pasto e concentrados foram agrupadas por semana e tratamento, armazenadas secas e posteriormente enviadas para análise por NIRS (Labtron, Cargill, Itapira/SP). Os valores de composição do pasto colhido e dos concentrados no experimento 1 são apresentados na Tabela 1, e para o experimento 2 na Tabela 3.

Os teores de gordura, proteína, lactose, caseína, e nitrogênio ureico do leite (NUL) do leite foram determinados pelo método de infravermelho (Bentley Combisystem, Bentley Instruments®). Também foi analisada a contagem de células somáticas por citometria de fluxo (Delta Combiscope, Advanced Instruments®).

O pH do leite foi mensurado utilizando-se um pHmetro (Kasvi K39, Kasvi®). O teste do álcool foi realizado pela mistura de 2 mL de leite e 2 mL de etanol com graduações crescentes de 2 em 2°GL, variando de 56 e 90°GL em uma placa de Petri sob um fundo preto. Os valores tomados representam a maior graduação alcoólica em que o leite não formou grumos. A acidez titulável foi determinada em graus Dornic (°D) conforme a metodologia descrita na IN 68 (BRASIL, 2006) em que, a uma amostra de 10 ml de leite, adicionava-se 4 a 5 gotas da solução de fenoftaleína a 1%. A solução resultante era titulada com uma solução de NaOH 0,1 mol/L até aparecimento de coloração rósea persistente por aproximadamente 30 segundos.

As concentrações séricas de metabólitos foram determinadas por kits comerciais. Foram mensuradas: albumina (Gold Analisa Diagnóstica®), proteínas totais e glicose (Labtest®) por metodologia enzimática colorimétrica. A concentração de globulinas foi obtida por diferença entre proteína total e albumina séricas. As concentrações de ácidos graxos não esterificados (AGNE) foram determinadas por metodologia enzimática colorimétrica com kit comercial (Randox®, kit NEFA FA115), e leitura em espectofotômetro de luz ultravioleta visível (Nanodrop®).

## **Cálculos e Análise estatística**

Para o experimento 1, os dados foram submetidos à análise de variância, com medidas repetidas ao longo do tempo, utilizando o procedimento MIXED do pacote estatístico SAS®. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com 3 tratamentos e 5 blocos. As características de produção e composição do leite, escore de condição corporal e os indicadores sanguíneos foram avaliados como medidas repetidas dentro do ciclo de aplicação do rBST (12 dias). O modelo estatístico incluiu os efeitos fixos do bloco, período, tratamentos, da interação entre período e tratamento e do erro experimental. Como pequenas diferenças entre as variáveis avaliadas existiram entre os

grupos ao início do experimento, os valores para cada destas antes da aplicação dos tratamentos foram usados como covariável, sendo a média de 3 dias para produção de leite, de 2 dias para a composição do leite, de um dia para as propriedades físico-químicas, de uma coleta para os indicadores sanguíneos e uma avaliação para ECC.

Os dados do experimento 2 foram submetidos à análise de variância, em um arranjo fatorial com medidas repetidas ao longo do tempo em um delineamento em blocos casualizados, utilizando o procedimento MIXED do pacote estatístico SAS®. As características de produção e composição do leite e o ECC foram analisadas como medidas repetidas dentro da semana, e os indicadores sanguíneos como medidas repetidas dentro do ciclo de aplicação do rBST. O modelo estatístico incluiu os efeitos fixos do bloco, da semana ou ciclo, dos fatores suplementação de rBST e tipo de SBM e das interações entre os fatores, da semana com os fatores semana, a interação tripla entre estes e do erro experimental. Como pequenas diferenças entre as variáveis avaliadas existiram entre os grupos ao início do experimento, os valores para cada destas antes da aplicação dos tratamentos foram usados como covariável, sendo a média de 3 dias para produção de leite, de 2 dias para a composição do leite, de um dia para as propriedades físico-químicas, de uma coleta para os indicadores sanguíneos e uma avaliação para ECC.

Todas as variáveis foram testadas para normalidade de resíduos pelo procedimento UNIVARIATE do pacote estatístico SAS 9.4®, usando o teste de Shapiro-Wilk com significância de 0,05. Variáveis foram consideradas com diferença significativa quando  $P \leq 0,05$ , quando  $0,05 < P \leq 0,10$  foi considerada tendência. Para o primeiro experimento, as tendências foram exploradas por teste de Tukey-Kramer a 10% de significância.

## RESULTADOS

### **Experimento 1**

Para todos os tratamentos durante o período experimental as médias  $\pm$  desvios padrões do consumo de matéria seca foram  $15,6 \pm 1,75$  kg/dia de pastagem, e  $26,0 \pm 1,76$  kg/dia para o consumo total. A produção de leite foi  $23,1 \pm 4,09$  kg de leite/dia e a produção de leite corrigida pela energia  $23,8 \pm 4,35$  kg/dia. Para os teores de componentes do leite as médias foram de: gordura 3,42

$\pm 0,64$ , proteína total  $3,46 \pm 0,31$ , lactose  $4,86 \pm 0,14$ , caseína  $2,68 \pm 0,26$  e nitrogênio ureico do leite  $18,3 \pm 4,50$  mg/dL. A produção média diária de componentes foi de: gordura  $0,784 \pm 0,178$  kg/dia, proteína total  $0,796 \pm 0,156$  kg/dia, lactose  $1,122 \pm 0,197$  kg/dia e caseína  $0,618 \pm 0,123$  kg/dia. O escore de células somáticas médio foi de  $2,8 \pm 2,02$ . O peso médio final foi de  $634 \pm 57,7$  kg. O escore de condição corporal médio foi de  $2,97 \pm 0,36$ . Para as características físico-químicas do leite os valores médios foram de: pH  $6,68 \pm 0,09$ , acidez titulável  $16,0 \pm 1,55^{\circ}\text{D}$  e graduação alcoólica ao que o leite foi estável de  $76,7 \pm 4,47^{\circ}\text{GL}$ . Para o soro as variáveis de perfil metabólico, medidas e soro, as médias gerais foram de: proteína total  $79,5 \pm 13,94$  g/L, albumina  $27,6 \pm 4,42$  g/L, globulinas  $51,9 \pm 12,36$  g/L, glicose  $51,9 \pm 13,17$  g/L e ácidos graxos não esterificados de  $0,26 \pm 0,125$  mmol/L.

O tratamento que apresentou a maior produção de leite foi SBM+rBST, que não diferiu do tratamento pSBM+rBST (24,5 e 23,7 kg/dia, respectivamente), enquanto as vacas do tratamento pSBM apresentaram a menor produção (20,8 kg/dia, Tabela 5). A produção de leite corrigida pela energia, não foi diferente entre os tratamentos ( $P = 0,261$ ). Os teores de gordura, proteína e lactose, não diferiram entre os tratamentos, conforme a Tabela 5.

Tabela 5. Média dos quadrados mínimos, erro padrão da média (EPM) e valor de  $P$  para produção de leite, produção corrigida pela energia (ECM), composição, produção de componentes, características físico-químicas, escore de células somáticas (ECS, peso vivo, escore de condição corporal (ECC) e perfil metabólico de vacas suplementadas com farelo de soja protegido (pSBM), farelo de soja protegido e somatotropina bovina recombinante (pSBM+rBST) ou com farelo de soja convencional e somatotropina bovina recombinante (SBM+rBST) recebendo forragem de azevém fresco cortado e servido no cocho.

Item	Tratamentos <sup>1</sup>			Valor de $P$	
	pSBM	SBM+rBST	pSBM+rBST	EPM	Tratamento
Leite, kg/d	20,8B	24,5A	23,7A	0,679	0,002
LCE <sup>2</sup> , kg/d	22,5	25,3	23,5	1,254	0,261
Gordura, %	3,58	3,47	3,34	0,173	0,644
Proteína, %	3,39	3,55	3,50	0,056	0,116
Lactose, %	4,83	4,87	4,85	0,034	0,378
Caseína, %	2,60B	2,75A	2,75A	0,046	0,034
Gordura, kg/d	0,772	0,827	0,756	0,064	0,695
Proteína, kg/d	0,696b	0,827a	0,803a	0,038	0,051
Lactose, kg/d	1,018B	1,188A	1,143AB	0,037	0,008
Caseína, kg/d	0,539B	0,642A	0,650A	0,034	0,048
ECS <sup>3</sup> , log	3,23	3,15	2,37	0,323	0,133

pH	6,70	6,68	6,65	0,024	0,283
AT <sup>4</sup> , °D	15,63	16,24	15,92	0,791	0,842
Álcool <sup>5</sup>	75,10	77,69	77,98	2,571	0,688
NUL <sup>6</sup> , mg/dL	18,85	17,81	17,98	0,573	0,399
Peso Vivo, kg	630,3	628,8	646,9	6,415	0,135
GPD <sup>7</sup> , kg/dia	0,339	0,310	0,678	0,131	0,135
GP <sup>8</sup> total, kg	15,2	15,2	33,2	6,415	0,135
ECC <sup>9</sup> , escala 1-5	3,02	3,00	3,00	0,038	0,836
Proteína total, g/L	78,57	75,83	81,89	3,836	0,477
Albumina, g/L	26,76	27,13	28,30	1,231	0,645
Globulinas, g/L	42,04	43,98	46,24	4,751	0,111
Glicose, mg/L	50,87	51,77	58,29	4,851	0,160
AGNE <sup>10</sup> , mmol/L	0,234AB	0,201B	0,336A	0,035	0,016

Letras maiúsculas diferem por Tukey a 5%, e minúsculas por Tukey a 10%.

<sup>1</sup> pSBM= farelo de soja protegido, SBM+ST= farelo de soja convencional e somatotropina e pSBM+ST= farelo de soja protegido e somatotropina. <sup>2</sup>Leite corrigido pela energia (TYRRELL; REID, 1965). <sup>3</sup> Escore de células somáticas, ECS=log2((CCS+1)/100)+3. <sup>4</sup>AT= Acidez titulável, medida em graus Dornic (°D). <sup>5</sup>Maior graduação alcoólica, em graus Gay-Lussac (°GL) que o leite não formou grumos. <sup>6</sup>Nitrogênio ureico do leite. <sup>7</sup>Ganho de peso diário. <sup>8</sup>Ganho de peso total. <sup>9</sup>Escore de condição corporal. <sup>10</sup>AGNE = Ácidos graxos não esterificados.

O teor de caseína foi maior ( $P = 0,034$ ), para os tratamentos recebendo rBST (2,75% tanto para SBM+rBST como para pSBM+rBST) comparados ao que recebeu apenas pSBM (2,60%).

Não houve diferença na produção de gordura (kg/dia) entre os tratamentos ( $P = 0,695$ ). Houve tendência de diferença entre tratamentos para a produção de proteína (SBM+rBST = 0,827 kg/dia e pSBM+rBST = 0,803 kg/dia maiores que pSBM = 0,696 kg/dia;  $P = 0,051$ ). A produção de lactose foi maior tratamento SBM+rBST (1,188 kg/dia). Houve diferença ( $P = 0,008$ ) para a produção de lactose entre os tratamentos, aqueles que receberam rBST (SBM+rBST = 1,188 kg/dia e pSBM+rBST = 1,143 kg/dia) não diferiram entre si; e entre os que receberam pSBM (pSBM+rBST = 1,143 kg/dia e pSBM = 1,018 kg/dia) também não diferiram entre si. Houve diferença entre os tratamentos para a produção de caseína ( $P = 0,048$ ), não havendo diferenças entre aqueles que receberam rBST (SBM+rBST = 0,642 kg/dia e pSBM+rBST = 0,650 kg/dia), e nos que receberam pSBM houve diferença pela suplementação de rBST (pSBM+rBST = 0,650 kg/dia vs. pSBM = 0,539 kg/dia). Os resultados de forma mais detalhada são apresentados na Tabela 5.

O escore de células somáticas não diferiu entre tratamentos ( $P = 0,133$ ), bem como pH do leite ( $P = 0,283$ ), acidez titulável ( $P = 0,842$ ), resistência ao teste do álcool ( $P = 0,688$ ) e nitrogênio ureico do leite ( $P = 0,399$ ) (Tabela 5).

O peso vivo ao final do experimento não diferiu entre os tratamentos ( $P = 0,135$ ), assim como para o ganho de peso diário, ganho de peso total e escore de condição corporal ( $P = 0,836$ ) (Tabela 5).

Não foram encontradas diferenças entre tratamentos para os níveis de proteínas séricas totais ( $P = 0,477$ ), nível sérico de albumina ( $P = 0,645$ ), de globulinas ( $P = 0,111$ ) e no nível sérico de glicose ( $P = 0,160$ ). A concentração sérica de ácidos graxos não esterificados diferiu entre os tratamentos ( $P = 0,016$ ), o tratamento SBM+rBST teve o menor valor (0,201 mmol/L) comparado ao tratamento pSBM+rBST (0,336 mmol/L). Os tratamentos pSBM (0,234 mmol/L) e pSBM+rBST (0,336 mmol/L) não diferiram entre si para a concentração sérica de ácidos graxos não esterificados (Tabela 5).

Ao longo de todo o período de avaliação de consumo, as sobras diárias perfizeram 25% do total diário oferecido. Não houve diferença para o consumo de pastagem ( $P = 0,502$ ) ou consumo total ( $P = 0,503$ ) entre os tratamentos (Tabela 6). O consumo de concentrado foi de 10,4 kg/dia de MS. Não houve diferenças para o consumo de FDN ( $P = 0,578$ ), FDN de forragem ( $P = 0,523$ ), matéria orgânica ( $P = 0,504$ ) ou de proteína bruta ( $P = 0,512$ ).

Tabela 6. Média dos quadrados mínimos e erro padrão da média do consumo total, de pastagem, concentrado, fibra em detergente neutro (FDN) total e oriundo de forragem (FDNfo), matéria orgânica (MO) e proteína bruta (PB) de vacas suplementadas com farelo de soja protegido (pSBM), farelo de soja protegido e somatotropina bovina recombinante (pSBM+rBST) ou com farelo de soja convencional e somatotropina bovina recombinante (SBM+rBST) recebendo forragem de azevém fresco cortado e servido no cocho.

Consumo kg/dia	Tratamentos			Valor de $P$	
	pSBM	SBM+ST	pSBM+ST	EPM	Trat
Matéria seca	25,1	26,1	26,2	0,779	0,503
Pastagem	14,6	15,7	15,7	0,778	0,502
Concentrado	10,4	10,4	10,4	-	-
FND	10,0	10,5	10,7	0,523	0,578
FDNfo	8,92	9,58	9,62	0,523	0,523
MO	22,7	23,5	23,6	0,686	0,504
PB	4,04	4,11	4,16	0,078	0,512

<sup>1</sup>pSBM= farelo de soja protegido, SBM+rBST= farelo de soja convencional e somatotropina e pSBM+rBST= farelo de soja protegido+ somatotropina.

## Experimento 2

As médias  $\pm$  desvios padrões de todos os tratamentos durante as 4 semanas de avaliação para o consumo de matéria seca foram:  $16,5 \pm 1,30$  kg/dia

de pastagem e  $21,7 \pm 1,30$  kg/dia para o consumo total. A produção média de leite foi de  $24,3 \pm 4,84$  kg de leite/dia e a produção de leite corrigida pela energia  $27,4 \pm 4,99$  kg/dia. Para os teores de componentes do leite as médias foram de: gordura  $4,18 \pm 0,53$ , proteína total  $3,47 \pm 0,31$ , lactose  $4,72 \pm 0,18$ , caseína  $2,61 \pm 0,23$  e nitrogênio ureico do leite  $19,7 \pm 3,39$  mg/dL. A produção média diária de componentes foi de: gordura  $1,008 \pm 0,202$  kg/dia, proteína total  $0,836 \pm 0,141$  kg/dia, lactose  $1,147 \pm 0,231$  kg/dia e caseína  $0,627 \pm 0,105$  kg/dia. O escore de células somáticas médio foi de  $2,84 \pm 1,75$ . O peso médio final foi de  $525 \pm 64,2$  kg. O escore de condição corporal médio foi de  $2,76 \pm 0,23$ . Para as características físico-químicas do leite os valores médios foram de: pH  $6,48 \pm 0,15$ , acidez titulável  $16,41 \pm 1,86^{\circ}\text{D}$  e graduação alcoólica ao que o leite foi estável de  $73,6 \pm 6,65^{\circ}\text{GL}$ . Para as variáveis de perfil metabólico, medidas no soro, as médias gerais foram de: proteína total  $77,1 \pm 14,63$  g/L, albumina  $32,3 \pm 10,35$  g/L, globulinas  $44,7 \pm 17,48$  g/L, glicose  $56,4 \pm 13,57$  g/L e ácidos graxos não esterificados de  $0,250 \pm 0,17$  mmol/L.

A produção de leite foi maior para os tratamentos recebendo rBST (Sim =  $25,9$  kg/dia vs. Não =  $22,7$  kg/dia;  $P = 0,012$ ), sem diferenças para o tipo de SBM ( $P = 0,582$ ). O mesmo ocorreu para produção de leite corrigida pela energia, com a maior produção nos tratamentos recebendo rBST (Sim =  $29,4$  kg/dia vs. Não =  $25,4$  kg/dia;  $P = 0,013$ ), sem diferenças para o tipo de SBM no concentrado ( $0,832$ ). Os resultados detalhados são apresentados na Tabela 7.

Houve uma tendência de diferença para o teor de proteína do leite nos tratamentos recebendo suplementação de rBST (Sim =  $3,52\%$  vs. Não =  $3,43\%$ ;  $P = 0,052$ ; Tabela 7). Para os teores de gordura, proteína e caseína do leite, não houve diferenças entre o tipo de SBM no concentrado ou a suplementação de rBST.

As produções diárias de gordura foram maiores para as vacas nos tratamentos que receberam rBST, comparadas às sem suplementação (Sim =  $1,093$  kg/dia vs. Não =  $0,924$  kg/dia;  $P = 0,014$ ), sem efeito do tipo de SBM utilizado ( $P = 0,555$ ). A produção de proteína também foi maior para as vacas nos tratamentos com suplementação de rBST comparadas às vacas nos tratamentos sem suplementação (Sim =  $0,897$  kg/dia vs. Não =  $0,776$  kg/dia;  $P = 0,011$ ), sem efeito do tipo de SBM no concentrado ( $P = 0,541$ ). A produção de lactose também foi maior quando havia suplementação de rBST, comparado a

não suplementação (Sim = 1,230 kg/dia vs. Não = 1,075 kg/dia;  $P = 0,013$ ), sem efeito do tipo de SBM ( $P = 0,593$ ). Para a produção de caseína, houve tendência de diferença nos tratamentos recebendo rBST comparados aos sem suplementação (Sim = 0,662 kg/dia vs. Não = 0,595 kg/dia;  $P = 0,082$ ), não sendo diferente ( $P = 0,637$ ) para o tipo de SBM no concentrado. Os valores para cada fator (tipo de SBM ou suplementação de rBST) são apresentados na Tabela 7.

O tipo de SBM no concentrado, ou a suplementação de rBST não afetaram o pH, a acidez titulável ou a resistência do leite ao teste do álcool (Tabela 7). O nitrogênio ureico do leite não foi diferente entre o tipo de SBM no concentrado ( $P = 0,381$ ) ou para a suplementação de rBST ( $P = 0,697$ ). Bem como, não houve diferenças no escore de células somáticas entre o tipo de SBM ( $P = 359$ ) ou para a suplementação de rBST ( $P = 0,304$ ).

Não houve diferença entre peso vivo, ganho de peso diário ou ganho de peso total entre os tratamentos com diferentes tipos de SBM no concentrado ( $P = 0,588$ ) ou suplementados ou não com rBST ( $P = 0,480$ ). Houve interação entre o tipo de SBM no concentrado e a suplementação de rBST, com o menor valor de escore de condição corporal para o tratamento recebendo concentrado com pSBM e suplementado com rBST ( $pSBM+rBST = 2,53$  vs. SBM = 2,91, pSBM = 2,89 e SBM+rBST = 2,70;  $P = 0,0145$ ; Tabela 7).

Para as variáveis de perfil metabólico, proteínas totais, albumina, globulinas, glicose e ácidos graxos não esterificados, não houve efeito de tipo de SBM no concentrado ou da suplementação de rBST, os valores detalhados são apresentados na Tabela 8.

Ao longo de todo o período de avaliação de consumo, as sobras diárias perfizeram 26% do total diário oferecido. O consumo de matéria seca não foi diferente entre os tratamentos que receberam SBM ou pSBM (SBM = 21,6 kg/dia vs. pSBM = 21,9 kg/dia;  $P = 0,701$ ). Também não houve diferença entre os tratamentos que receberam rBST (Não = 21,6 kg/dia vs. Sim = 21,9 kg/dia;  $P = 0,669$ ; Tabela 9). O consumo de concentrado foi de 5,26 kg/dia de MS. Não houve diferenças no consumo de FDN, FDN de forragem, matéria orgânica ou proteína bruta (Tabela 9) para o tipo de SBM no concentrado ou a suplementação de rBST.

Tabela 7. Média dos quadrados mínimos, erro padrão da média (EPM) e valor de P para produção de leite, produção corrigida pela energia (ECM), composição, produção de componentes, características físico-químicas, escore de células somáticas (ECS), peso vivo e escore de condição corporal (ECC) de vacas suplementadas com 6 kg/dia de concentrado contendo farelo de soja (SBM) ou farelo de soja protegido (pSBM) com ou sem somatotropina bovina recombinante (rBST) recebendo forragem de azevém fresco cortado e servido no cocho.

Item	Tipo de SBM				EPM	Tratamento <sup>1</sup>				EPM	Valor de P		
	SBM	pSBM	Não	Sim		SBM	pSBM	SBM+rBST	pSBM+rBST		Tipo de SBM	rBST	Tipo de SBM x rBST
Leite, kg/d	24,0	24,6	22,7	25,9	0,8511	22,2	23,2	25,7	26,1	1,2121	0,582	0,012	0,808
LCE <sup>2</sup> , kg/d	27,6	27,2	25,4	29,4	1,0697	25,4	25,4	29,7	29,1	1,5315	0,832	0,013	0,818
Gordura, %	4,32	4,05	4,05	4,32	0,141	4,16	3,94	4,48	4,16	0,2105	0,214	0,207	0,794
Proteína, %	3,50	3,45	3,43	3,52	0,0322	3,47	3,38	3,53	3,52	0,0486	0,341	0,052	0,408
Lactose, %	4,75	4,73	4,73	4,75	0,0242	4,73	4,72	4,77	4,73	0,0366	0,490	0,481	0,668
Caseína, %	2,59	2,63	2,63	2,60	0,0493	2,64	2,62	2,54	2,65	0,0722	0,555	0,662	0,335
Gordura, kg/d	1,028	0,989	0,924	1,093	0,0452	0,933	0,914	1,122	1,064	0,0651	0,541	0,014	0,758
Proteína, kg/d	0,839	0,834	0,776	0,897	0,0314	0,773	0,779	0,905	0,889	0,0447	0,903	0,011	0,811
Lactose, kg/d	1,137	1,168	1,075	1,230	0,0413	1,051	1,099	1,2226	1,2366	0,0591	0,593	0,013	0,771
Caseína, kg/d	0,620	0,637	0,595	0,662	0,0261	0,588	0,602	0,651	0,672	0,0376	0,637	0,082	0,932
pH	6,49	6,47	6,50	6,47	0,015	6,50	6,49	6,48	6,46	0,0225	0,458	0,208	0,915
AT <sup>3</sup> , °D	16,08	16,73	16,24	16,58	0,3964	16,07	16,41	16,1	17,06	0,5858	0,251	0,555	0,603
Alcool <sup>4</sup>	72,9	74,3	73,6	73,5	1,1945	71,2	76,1	74,6	72,5	1,7817	0,398	0,945	0,078
NUL <sup>5</sup> , mg/dL	19,4	20,1	19,9	19,6	0,5696	19,7	20,1	19,1	20,1	0,8335	0,381	0,697	0,742
ECS <sup>6</sup>	2,997	2,1633	2,139	3,0218	0,5469	2,682	1,596	3,3128	2,7307	0,894	0,359	0,304	0,715
Peso Vivo, kg	522,8	527,6	521,7	528,6	5,6964	522,0	521,5	523,7	533,6	9,0667	0,588	0,480	0,494
GPD <sup>7</sup> , kg/dia	-0,03	0,08321	-0,055	0,109	0,1357	-0,05	-0,06	-0,0096	0,227	0,2159	0,588	0,480	0,494
GP <sup>8</sup> total, kg	-1,24	3,4948	-2,329	4,5791	5,6994	-2,09	-2,57	-0,4036	9,5617	9,0667	0,588	0,480	0,494
ECC <sup>9</sup> , escala 1-5	2,806	2,710	2,901	2,615	0,023	2,911	2,890	2,700	2,529	0,0359	0,014	<0,001	0,014

<sup>1</sup>SBM= farelo de soja convencional, pSBM= farelo de soja protegido, SBM+ST= farelo de soja convencional e somatotropina e pSBM+ST= farelo de soja protegido+ somatotropina. <sup>2</sup>Leite corrigido pela energia (TYRRELL; REID, 1965). <sup>3</sup>AT= Acidez titulável, medida em graus Dornic (°D). <sup>4</sup>Maior graduação alcoólica, em graus Gay-Lussac (°GL) que o leite não formou grumos. <sup>5</sup>Nitrogênio ureico do leite. <sup>6</sup>Escore de células somáticas,  $ECS=\log_2((CCS+1)/100)+3$ .

<sup>7</sup>Ganho de peso diário. <sup>8</sup>Ganho de peso total. <sup>9</sup>Escore de condição corporal.

Tabela 8. Média dos quadrados mínimos, erro padrão da média (EPM) e valor de P para as concentrações de proteínas totais, albumina, globulinas, glicose e de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no soro sanguíneo de vacas suplementadas com 6 kg/dia contendo farelo de soja (SBM) ou farelo de soja protegido (pSBM) com ou sem somatotropina bovina recombinante (rBST) recebendo forragem de azevém fresco cortado e servido no cocho.

Item	Tipo de SBM				rBST				Tratamento <sup>1</sup>				Valor de P		
	SBM	pSBM	Não	Sim	EPM	SBM	pSBM	SBM+rBST	pSBM+rBST	EPM	Tipo de SBM	rBST	Tipo de SBM x rBST		
Proteína Total, g/L	79,06	75,07	79,44	74,69	3,235	82,19	76,70	75,93	73,45	5,305	0,394	0,351	0,741		
Albumina, g/L	33,25	31,38	31,73	32,91	2,011	33,59	29,86	32,91	32,90	2,970	0,534	0,676	0,509		
Globulinas g/L	45,67	43,83	45,87	43,64	3,203	47,91	43,83	43,44	43,83	4,727	0,660	0,652	0,625		
Glicose, mg/dL	59,00	53,87	57,87	54,99	2,511	60,41	55,34	57,58	52,40	3,676	0,174	0,426	0,988		
AGNE <sup>2</sup> , mmol/L	0,234	0,267	0,249	0,253	0,041	0,307	0,190	0,161	0,344	0,069	0,598	0,943	0,053		

<sup>1</sup>SBM= farelo de soja convencional, pSBM= farelo de soja protegido, SBM+rBST= farelo de soja convencional e somatotropina e pSBM+rBST= farelo de soja protegido+ somatotropina.

<sup>2</sup>AGNE = Ácidos graxos não esterificados

Tabela 9. Média dos quadrados mínimos e erro padrão da média do consumo total, de pastagem, concentrado, fibra em detergente neutro (FDN) total e oriundo de forragem (FDNfo), matéria orgânica (MO) e proteína bruta (PB) de vacas suplementadas com 6 kg/dia de concentrado contendo farelo de soja (SBM), ou farelo de soja protegido (pSBM) com ou sem somatotropina bovina recombinante (rBST) recebendo forragem de azevém fresco cortado e servido no cocho.

Item	Tipo de SBM				rBST				Tratamento <sup>1</sup>				Valor de <i>P</i>		
	SBM	pSBM	Não	Sim	EPM	SBM	pSBM	SBM+rBST	pSBM+rBST	EPM	Tipo de SBM	rBST	Tipo de SBM x rBST		
Consumo, kg/dia															
Matéria seca	21,6	21,9	21,6	21,9	0,397	21,4	21,8	21,8	21,9	0,565	0,701	0,669	0,785		
Pastagem	16,4	16,6	16,4	16,6	0,397	16,2	16,6	16,6	16,6	0,565	0,703	0,669	0,785		
Concentrado	5,26	5,26	5,26	5,26	-	5,26	5,26	5,26	2,26	-	-	-	-		
FND	9,83	10,02	9,86	9,98	0,220	9,71	10,01	9,95	10,02	0,318	0,560	0,683	0,719		
FDNfo <sup>2</sup>	9,40	9,52	9,39	9,52	0,220	9,28	9,51	9,52	9,53	0,318	0,705	0,683	0,719		
MO	19,4	19,6	19,4	19,6	0,350	19,2	19,4	19,25	19,77	0,542	0,704	0,671	0,782		
PB	3,74	3,80	3,75	3,79	0,060	3,71	3,79	3,77	3,81	0,090	0,500	0,667	0,833		

<sup>1</sup>SBM= farelo de soja convencional, pSBM= farelo de soja protegido, SBM+rBST= farelo de soja convencional e somatotropina e pSBM+rBST= farelo de soja protegido+ somatotropina. <sup>2</sup> FDNfo = FDN oriundo de forragem.

## DISCUSSÃO

As produções médias no experimento 1 foram relativamente baixas considerando as dietas com 12 kg de concentrado na matéria natural, o que pode estar relacionado ao DEL elevado das vacas (média de 242 dias) e à qualidade do volumoso, com 62% de FDN e 12% de proteína bruta (Tabela 1). Já no experimento 2, as produções médias foram compatíveis com vacas de menor peso vivo (520 kg) e estágio de lactação não tão avançado (DEL médio = 205 dias), recebendo um nível menor de concentrado (6 kg/dia de matéria natural) e uma melhor qualidade do volumoso (FDN = 56% e PB = 16%, Tabela 3).

A maior produção de leite de vacas alimentadas com azevém fresco cortado (*Lolium multiflorum*) suplementadas com rBST (+2,9 kg/dia no experimento 1 e +3,2 kg/dia no experimento 2), são compatíveis com os incrementos de produção médios relatados na literatura, os quais variam de 2 a 6 kg/dia (FESSEHA; ALIYE; TEMESGEN, 2019; NRC, 2001). A ausência de aumento na produção de leite para as vacas nos tratamentos que receberam pSBM em ambos os experimentos pode estar relacionada aos aportes já excedentes de proteína metabolizável nas dietas com SBM (Tabela 2 e Tabela 4).

O consumo de matéria seca e de forragem em ambos os experimentos não diferem entre tratamentos (Tabela 6 e Tabela 9), não podendo explicar as diferenças em produção ocorridas ao longo de 4 ciclos de 12 dias entre as aplicações de rBST (Tabela 5Tabela 7), porém é superior ao relatado por outros autores (HYNES et al., 2016; KOLVER, 2003). No experimento 1, o consumo de FDN forragem foi 1,5% do peso vivo, enquanto no experimento 2 foi de 1,8%. Para vacas em lactação confinadas e alimentadas com dietas a base de silagens e feno como forragens, os limites de ingestão de FDN situam-se na faixa de 0,9 a 1,2% do peso vivo (HUTJENS, 2018; KNOB, 2020). No entanto é admitido que vacas em pastejo consomem valores superiores a vacas confinadas, atingindo valores próximos de 1,5% do peso vivo em FDN oriundo de forragem (KOLVER, 2003; MIGUEL et al., 2014), porém a colheita de alimento via pastejo é considerada como restrita comparada a animais confinados, sendo o principal limitante à produção (BARGO et al., 2003). Em poucas semanas após a suplementação com rBST, é esperado que a maior produção seja suportada

também por aumentos em consumo, porém não existe consenso da duração dessa fase entre o início da suplementação e o aumento no consumo (NRC, 2001; ST-PIERRE et al., 2014). Em um experimento com vacas Jersey, alimentadas com dieta completa, as vacas suplementadas com rBST tiveram maior consumo em um intervalo de 28 dias após o início da suplementação (BREMNER; OVERTON; CLARK, 1997). Já Chilliard (1988) relata que um período de 6 a 8 semanas é necessário, porém períodos maiores podem ocorrer. Em nossos experimentos, o consumo relativamente alto de forragem pode estar associado a disponibilidade de alimento fresco ofertado várias vezes ao dia, não havendo restrições ao consumo normalmente existentes para animais pastejando. A ausência de diferença no consumo entre tratamentos, pode sugerir que períodos maiores de tempo sejam necessários para avaliar mudanças no consumo de vacas suplementadas com rBST e consumindo pastagens, ou de que o consumo relativamente alto de FDN como percentual do peso vivo tenha causado limitação física na ingestão.

O maior teor de caseína para as vacas que receberam os tratamentos com rBST no experimento 1 (Tabela 5) e tendência de maior teor de proteína para os tratamentos recebendo rBST no experimento 2 (Tabela 7) é reportado na literatura, tanto quanto ao aumento de componentes proteicos do leite quanto à não alteração ou diminuição (FESSEHA; ALIYE; TEMESGEN, 2019; SHIBRU, 2016), em função do aumento na produção de leite, porém sem alterações que comprometam a qualidade do leite ou além dos valores reportados para o leite de vacas não suplementadas (CAPUCO; AKERS, 2011). (FESSEHA; ALIYE; TEMESGEN, 2019; SHIBRU, 2016). Em um estudo com suplementação de rBST 60 dias pós-parto até o final da lactação, o teor de proteína do leite das vacas suplementadas com rBST foi maior (DE MORAIS et al., 2017). Também num estudo meta-analítico uma tendência a maiores teores de proteína no leite foi reportada para vacas recebendo a mesma fonte de rBST dos dois experimentos, porém na dose de bula (500 mg a cada 14 dias).

Os incrementos sobre as produções diárias de gordura, proteína, lactose e caseína (Tabela 5Tabela 7), variaram de 11 a 20% sobre a média dos tratamentos não suplementados com rBST, pouco superior ao reportado para vacas com produção ao redor de 35 kg/dia, confinadas e alimentadas com dietas completas (10 a 15%) (DE MORAIS et al., 2017).

O aumento na produção de leite das vacas recebendo pSBM+rBST no experimento 1, parece em parte suportado pela mobilização de reservas corporais, já que estas apresentaram maiores valores séricos de ácidos graxos não esterificados (Tabela 5). No entanto, os valores encontrados neste experimento, situam-se dentro da faixa fisiológica considerada normal (<0,4 mmol/L) (LEBLANC, 2010). A incapacidade de ajustar o consumo de nutrientes à demanda criada pelo aumento de produção advindo da rBST promove a mobilização de reservas corporais, especialmente de gordura, mas também de AA (FESSEHA; ALIYE; TEMESGEN, 2019; HUTJENS, 2008; ST-PIERRE et al., 2014a). Em dietas que fornecem grandes quantidades de proteína não degradável no rúmen, a sensibilidade do tecido adiposo à epinefrina é aumentada, facilitando a mobilização das reservas de gordura corporal e aumentando os níveis séricos de ácidos graxos não esterificados (CADÓRNIGA; DÍAZ, 1995; MARETT et al., 2018).

No experimento 2, apesar de todas as vacas terem perdido condição corporal ao longo do experimento (Tabela 5), o efeito foi maior para vacas suplementadas com pSBM+rBST, o que poderia sugerir mobilização de reservas corporais. No entanto, apesar da menor condição corporal, esse efeito não foi seguido pelo teor sérico de ácidos graxos não esterificados (Tabela 8).

## CONCLUSÕES

Vacas confinadas e alimentadas com forragem colhida tem maior desempenho produtivo em resposta a suplementação com somatotropina bovina recombinante.

O aumento no desempenho produtivo pela suplementação com somatotropina bovina recombinante, não é acompanhado de aumento no consumo de forragem nas primeiras 6 semanas ou 4 ciclos de aplicação.

Para vacas no terço final da lactação, com acesso irrestrito a forragem fresca colhida, a suplementação com farelo de soja convencional é suficiente para suportar a produção.

## **ARTIGO 2 - FARELO DE SOJA PROTEGIDO ASSOCIADO OU NÃO A SOMATOTROPINA AUMENTA A PRODUÇÃO DE LEITE DE VACAS EM PASTAGEM PERENE DE VERÃO**

### **RESUMO**

O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do maior aporte de proteína metabolizável pela mudança na fonte de proteína (farelo de soja protegido Soypass BR®, Cargill - pSBM - em substituição ao farelo de soja convencional - SBM) associados ou não à suplementação com somatotropina bovina recombinante (rBST, Lactotropin®, União Química) sobre o metabolismo, consumo de alimentos, produção e qualidade do leite em vacas leiteiras no meio da lactação pastejando gramíneas perenes de verão. Um total de 36 vacas Jersey, 28 multíparas e 8 primíparas ( $21,1 \pm 3,9$  kg/d de leite;  $172,0 \pm 71,0$  dias em lactação) de um rebanho comercial foram blocadas pela ordem de lactação, produção de leite e dias em lactação e alocadas em um experimento contínuo em blocos casualizados, em esquema fatorial 2x2. A duração do experimento foi de 6 semanas, com 2 de adaptação e 4 de coleta. As vacas recebiam concentrado (6 kg/dia) com SBM ou pSBM (33% na matéria natural) e foram mantidas em pastagem perene de verão (*Cynodon* sp., e *Axonopus* sp.). Metade das vacas em cada suplemento concentrado recebeu injeção subcutânea de 500 mg de rBST (Lactotropin®, União Química) a cada 12 dias. Os concentrados foram fornecidos duas vezes ao dia, após as ordenhas. A produção de leite foi registrada diariamente, os indicadores de qualidade do leite e o escore de condição corporal (ECC) semanalmente. No sexto dia após a administração de rBST foram colhidas amostras de sangue dos vasos coccígeos para mensuração de ácidos graxos não esterificados (AGNE) e perfil metabólico. Os dados foram submetidos a análise de variância, pelo procedimento MIXED do SAS com medidas repetidas ao longo do tempo. A produção de leite foi maior nas vacas suplementadas com rBST comparadas às não suplementadas (21,6 vs. 19,1 kg/dia), e tiveram alguma mobilização de reservas corporais (AGNE = 0,236 vs. 0,185 mmol/L, para vacas suplementadas com rBST e não suplementadas, respectivamente). Também as vacas suplementadas com pSBM produziram mais leite comparadas às suplementadas com SBM (21,6 vs. 19,1 kg/dia), sem

diferenças no teor sérico de AGNE. A suplementação de rBST ou de pSBM também foi efetiva em aumentar a produção de leite corrigida pela energia e as produções de gordura, proteína, lactose e caseína. No entanto, grande parte das variáveis do desempenho produtivo teve resposta superior quando comparadas as médias obtidas pela suplementação conjunta de rBST e pSBM, com as médias obtidas pela suplementação isolada de rBST ou de pSBM. Conclui-se com vacas mantidas em pastagens perenes tropicais tem maior produção de leite e componentes quando suplementadas com pSBM ou rBST, com ganho adicional na associação dos suplementos.

**Palavras-chave:** proteína não degradável no rúmen, vaca Jersey, desempenho, suplementação

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of a greater supply of metabolizable protein by the change in the protein source (protected soybean meal (Soypass BR®, Cargill - pSBM - instead of soybean meal - SBM) associated or not with somatotropin supplementation Recombinant bovine (rBST, Lactotropin®, União Química) on metabolism, feed consumption, production, and milk quality in dairy cows in the mid-lactation stage grazing summer perennial grasses. A total of 36 Jersey cows, 28 multiparous and 8 primiparous ( $21.1 \pm 3.9$  kg/d of milk;  $172 \pm 71.0$  DIM) from a commercial herd were blocked by the order of lactation, production of milk and days in lactation and allocated in a continuous experiment in randomized blocks, in a 2x2 factorial scheme. The duration of the experiment was 6 weeks, with 2 of adaptation and 4 of collection. Cows received concentrate (6 kg/day) with SBM or pSBM (33% in natural matter) and were kept on perennial summer pasture (*Cynodon* sp., and *Axonopus* sp.). Half of the cows in each concentrated supplement received a subcutaneous injection of 500 mg of rBST (Lactotropin®, União Química) every 12 days. The concentrates were provided twice a day, after milking. Milk production was recorded daily, milk quality indicators and body condition score (BCS) weekly. On the sixth day after rBST administration, blood samples were collected from the coccygeal vessels for measurement of non-esterified fatty acids (NEFA) and metabolic profile. Data were submitted to analysis of variance, using the SAS MIXED procedure with

repeated measures over time. Milk production was higher in cows supplemented with rBST compared to non-supplemented (21.6 vs. 19.1 kg/day), and they had some mobilization of body reserves (AGNE = 0.236 vs. 0.185 mmol/L, for supplemented cows). with rBST and unsupplemented, respectively). Cows supplemented with pSBM also produced more milk compared to those supplemented with SBM (21.6 vs. 19.1 kg/day), with no differences in serum NEFA content. Supplementation of rBST or pSBM was also effective in increasing energy-corrected milk production and production of fat, protein, lactose and casein. However, most of the productive performance variables had a greater response when comparing the means obtained by the combined supplementation of rBST and pSBM, with the means obtained by the isolated supplementation of rBST or pSBM. It is concluded that cows maintained on tropical perennial pastures have higher milk and milk production when supplemented with pSBM or rBST, with additional gain in the combination of supplements.

**Key-words:** rumen undegradable protein, Jersey cow, performance, supplementation

## INTRODUÇÃO

Pastagens perenes de verão bem manejadas são ricas em proteína bruta. No entanto, boa parte dessa proteína é degradável no rúmen e uma quantidade considerável não é usada, seja pelo seu excesso ou pela falta de substrato fermentável com o qual o nitrogênio possa ser captado (JACOBS, 2014; KOLVER, 2003).

Aumentar a quantidade de proteína entregue no intestino de vacas consumindo pastagens é um desafio. Além da alta degradabilidade da proteína presente nas forrageiras, também os concentrados típicos têm essa característica. A suplementação de vacas mantidas em pastagens com cereais ou fontes de fibra não-forragem visa aumentar a quantidade de substrato fermentável que possa ser usado para agregar o nitrogênio oriundo da proteólise ruminal. Por exemplo, vacas em pastagens bem manejadas, não diferem na resposta a suplementação com concentrados com níveis variados de proteína, quando as fontes de proteína presentes no concentrado são de alta degradabilidade ruminal (DANES et al., 2013a; KELLAWAY; HARRINGTON,

2004; SEMMELMANN et al., 2008). Isso pode ser explicado pelo atendimento das exigências em substratos nitrogenados (nitrogênio não proteico, aminoácidos, peptídeos ou proteínas) aos microrganismos ruminais. Por serem fontes com alta degradabilidade ruminal, a passagem de aminoácidos diretamente do alimento é baixa para compor a proteína metabolizável. Em um estudo anterior, constatamos que o fornecimento de farelo de soja protegido para vacas em pastagens tropicais aumenta a produção de leite e componentes do leite, mesmo em dietas de elevado teor de proteína (FRANÇA, 2017). Outros autores apontam a melhoria de desempenho obtida com fontes de proteína oriunda de soja a proximidade que a composição de AA dessa fonte apresenta com a exigida pelas vacas (IPHARRAGUERRE; CLARK, 2005; IPHARRAGUERRE; CLARK; FREEMAN, 2005; MALACCO et al., 2021).

Na última década, o suprimento de AA e a forma como eles impactam a produção de leite vem sendo revisados, para melhor ajustar os modelos nutricionais (NASEM, 2021). O aumento no aporte de alguns AA para vacas tem respostas consistentes no aumento da produção de proteína do leite e de lactose, além das esperadas pela simples correção das deficiências ou mesmo em dietas deficientes em outros AA ou energia (LAPIERRE et al., 2010b). Isso é suportado por trabalhos que mostram que as vacas podem aumentar a eficiência de captação de alguns substratos (DANES et al., 2020; YODER et al., 2020), e também que alguns AA podem exercer sinalização sobre a taxa metabólica celular, e no aumento da capacidade de síntese mediada pelo estímulo no alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR) e no aumento dos níveis locais e circulantes de fator de crescimento semelhante a insulina tipo-1 (IGF-1) (FLYNN; SHAW; BECKER, 2020; OSORIO; LOHAKARE; BIONAZ, 2016; WANG et al., 2014). Atualmente, a somatotropina bovina recombinante (rBST), um aditivo conhecido e amplamente utilizado, tem efeitos conhecidos, aumentando a circulação de IGF-1, o que aumenta a taxa metabólica celular, o aporte sanguíneo na glândula mamária e a produção de leite e componentes (FESSEHA; ALIYE; TEMESGEN, 2019). Os nutrientes adicionais necessários são supridos principalmente por mecanismos homeorréticos no início da suplementação, como a oxidação de ácidos graxos para poupar glicose e o uso de mais substratos para a gliconeogênese. Em poucas semanas, é esperado um aumento no consumo, e consequente aumento no aporte de nutrientes para

suportar a produção (BAUMAN, 1999; DE MORAIS et al., 2017; ST-PIERRE et al., 2014).

Apesar de a rBST ser utilizada desde a década de 1990 para vacas a partir da oitava semana de lactação, os termos somatotropina ou hormônio do crescimento causam percepção negativa nos consumidores (WOLF et al., 2016a) e seu uso não é permitido em alguns países e em outros vem decaindo por pressão dos consumidores (BRINCKMAN, 2001; DAIRY HERD MANAGEMENT, 2017). Isso leva a considerar que em breve, produtores e técnicos possam precisar contornar a ausência ou limitação de uso desse aditivo. A mediação do efeito tanto da rBST, quanto de alguns AA sobre o IGF-1 e as respostas produzidas abrem caminho para investigar a possibilidade de que um possa vir a substituir o outro, ou se a ação ocorre independentemente.

O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do maior aporte de proteína metabolizável pela mudança na fonte de proteína (farelo de soja protegido em substituição ao farelo de soja, associados ou não à suplementação com somatotropina bovina recombinante sobre o desempenho de vacas leiteiras no meio do estágio da lactação, recebendo suplementação concentrada e pastejando gramíneas perenes de verão.

## MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos para a realização dos experimentos foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade do Estado de Santa Catarina sob número CEUA nº 3807070519 (ID 000904). O experimento foi conduzido no período de 10 de março a 21 de abril de 2021, totalizando 6 semanas, em uma propriedade comercial localizada em Orleans/SC (28°21'48" S, 49°13'48" O).

Um total de 36 vacas Jersey, 28 multíparas e 8 primíparas ( $21,1 \pm 3,9$  kg/d de leite;  $172,0 \pm 71,0$  DEL,  $381,6 \pm 39,08$  kg e  $3,4 \pm 2,18$  partos) oriundas do rebanho comercial foram utilizadas em um esquema fatorial 2X2, com delineamento em blocos casualizados. As vacas provinham de alimentação com pastagem, suplementação com 5 kg de matéria natural de concentrado energético e não recebiam suplementação de rBST anterior ao experimento. Os fatores foram o tipo de farelo de soja no concentrado e a suplementação ou não

de somatotropina bovina recombinante (rBST). As vacas foram blocadas pelo número de lactações, dias em lactação (DEL) e produção de leite e sorteadas a um dos quatro grupos experimentais.

As vacas receberam 6 kg/dia de um suplemento concentrado contendo 2 kg de uma fonte de proteína oriunda de farelo de soja convencional (**SBM**) ou farelo de soja protegido (**pSBM**), distribuído em duas refeições iguais, após as ordenhas. A fonte de farelo de soja protegido utilizada foi um produto comercial a base de farelo de soja tratado com resina líquida (Soypass BR®, Cargill). Para cada grupo de 18 vacas recebendo uma das duas fontes de proteína, metade (9 vacas) receberam a suplementação de somatotropina recombinante bovina, na forma de zinco – óleo de gergelim (**rBST**), por via subcutânea, na dose de 500 mg a cada 12 dias (Lactotropin®, União Química). As demais vacas, não suplementadas com ST receberam por via subcutânea 2 mL de solução salina 0.09% NaCl no mesmo período das vacas que receberam ST. Assim sendo, as vacas receberam um de quatro tratamentos de forma contínua: **SBM** – concentrado com farelo de soja convencional, **pSBM** - concentrado com farelo de soja protegido, **SBM+rBST** – concentrado com farelo de soja convencional associado a somatotropina ou **pSBM+rBST** – concentrado com farelo de soja protegido associado a somatotropina. O concentrado com SBM foi formulado para atender as exigências das vacas (NRC, 2001), para o concentrado com pSBM, a fonte de farelo de soja foi totalmente substituída, visando aumentar a proteína metabolizável da dieta. Com isso se buscou atender as necessidades de proteína metabolizável. As duas semanas iniciais consistiram na adaptação dos animais aos tratamentos, perfazendo duas aplicações de ST (dia 0 e dia 13), com as semanas 3, 4, 5 e 6 (dia 15 a 42) para a coleta de dados

As vacas foram mantidas em pastagens mistas de gramíneas perenes de estação quente compostas pelas cultivares Tifton 85 (*Cynodon* sp.) e Missioneira Gigante (*Axonopus catharinensis*). O manejo foi em rebanho comum, com todos os animais pastejando o mesmo piquete, em companhia de animais do rebanho que não participaram do experimento. Os piquetes possuíam área média de 1800 m<sup>2</sup> em topografia acidentada. A distância média diária percorrida foi de 1032 metros na horizontal e de 71,3 metros na vertical. A distância e desnível foram obtidos por medida com base em imagem de satélite (Google Earth Pro®). As vacas permaneceram na pastagem em todo o período, a exceção dos

momentos de ordenha e suplementação. O manejo da pastagem foi realizado com base no número de folhas por perfilho, adotando de 4,5 a 5 folhas como momento de acesso das vacas ao piquete para pastejo. O critério de manejo adotado foi baseado na fisiologia de crescimento do Tifton 85 (PINTO, 2000). Amostras da pastagem foram colhidas por simulação de pastejo (DE VRIES, 1995), em 4 dias de cada semana. A matéria seca foi determinada após cada coleta, por secagem a 105°C por pelo menos 30 minutos ou até a massa ser constante em equipamento tipo air-fryer (WALLAU; VENDRAMINI, 2019). Fotos do decorrer do experimento são apresentadas na Figura 3.

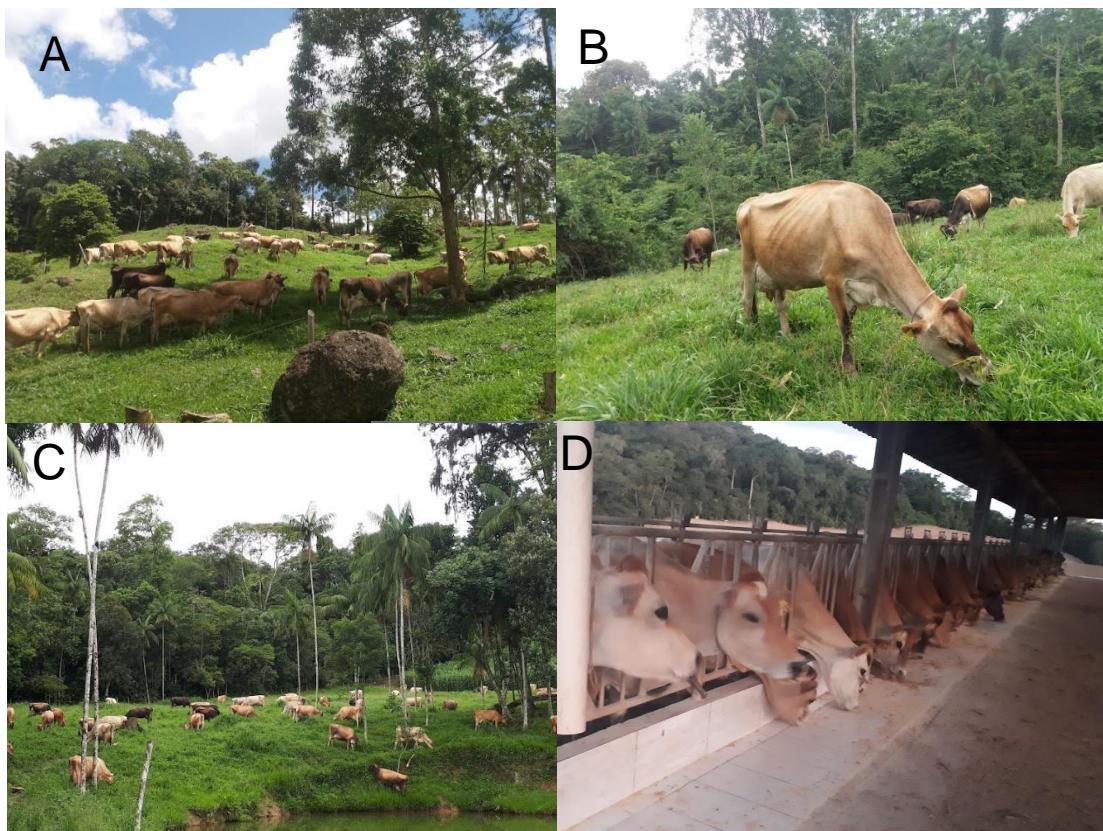


Figura 3. Fotos do decorrer do experimento de verão. A, B e C: Vacas do experimento pastejando em rebanho comum na propriedade. D: Pista de alimentação onde eram servidos os concentrados e contidas as vacas para coletas.

Amostras dos alimentos concentrados foram coletadas semanalmente. As amostras de pasto e concentrados foram agrupadas por semana e tratamento, armazenadas secas e posteriormente enviadas para análise por NIRS (Labtron, Cargill, Itapira/SP). Os valores de composição do pasto colhido e dos concentrados são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Composição da pastagem e dos concentrados experimentais fornecidos.

Item	Pastagem amostrada	Concentrados <sup>1</sup>	
		SBM	pSBM
Ingrediente, % da MS			
Milho moído		47,0	47,1
Casca de soja		13,5	13,5
Farelo de soja		33,0	-
Soypass BR® <sup>2</sup>		-	32,9
Núcleo mineral/vitamínico <sup>3</sup>		3,02	3,03
Bicarbonato de sódio		3,02	3,03
Sal comum		0,38	0,38
Composição nutricional			
MS, %	18,8	88,2	88,0
PB, % da MS	17,8	23,7	24,0
MM, % da MS	8,71	10,1	10,2
EE, % da MS	2,82	2,42	2,72
FDN, % da MS	65,8	15,9	16,6
FDA, % da MS	28,0	8,59	8,73
Lignina, % da MS	2,97	0,19	0,15
Ca, % da MS	0,35	0,78	0,87
P, % da MS	0,27	0,51	0,54
ELI, Mcal/ kg de MS <sup>4</sup>	1,34	1,91	1,94

<sup>1</sup> SBM= Farelo de soja convencional, pSBM= Farelo de soja protegido

<sup>2</sup> Soypass BR, Cargill. Níveis de garantia: 54% PB, Proteína degradável no rúmen (máx.) 40% da PB, Proteína não degradável no rúmen (mín.) 60% da PB.

<sup>3</sup> Níveis por quilograma do produto: 205 g Ca, 60 g P, 20 g S, 20 g Mg, 35 g K, 70 g Na, 15 mg Co, 700 mg Cu, 2500 mg Zn, 700 mg Fe, 10 mg Cr, 1600 mg Mn, 40 mg I, 19 mg Se, 1000 mg monensina sódica, 200.000 UI vit. A, 50.000 UI vit. D3 e 1500 UI vit. E.

<sup>4</sup> Calculado a partir do NRC (2001), usando a análise bromatológica dos alimentos e dados médios dos animais em cada tratamento.

A produção de leite foi medida diariamente por medidores Waikato® Multi Meter. Para a análise de componentes do leite, em cada semana foi realizada a coleta de amostras de quatro ordenhas subsequentes. As amostras de cada ordenha foram acondicionadas em recipientes com bronopol como conservante e enviadas ao Laboratório da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH) em Curitiba, PR, para realização das análises dos teores de gordura, proteína, lactose, caseína e nitrogênio ureico do leite (NUL), pelo método de infravermelho (Bentley Combisystem, Bentley Instruments®). Também foi analisada a contagem de células somáticas por citometria de fluxo (Delta Combiscope, Advanced Instruments®).

Para análise das propriedades físico-químicas do leite uma amostra de leite foi colhida em duas ordenhas em cada semana e analisadas na forma de

amostras conjuntas, sendo proporcionais ao volume de leite de cada ordenha. O pH do leite foi mensurado utilizando-se um pHmetro (Kasvi K39, Kasvi®). O teste do álcool foi realizado pela mistura de 2 mL de leite e 2 mL de etanol com graduações crescentes de 2 em 2°GL, variando de 56 e 90°GL em uma placa de Petri sob um fundo preto. Os valores tomados representam a maior graduação alcoólica em que o leite não formou grumos. A acidez titulável foi determinada em graus Dornic (°D) conforme a metodologia descrita na IN 68 (BRASIL, 2006) em que, a uma amostra de 10 ml de leite, adicionava-se 4 a 5 gotas da solução de fenoftaleína a 1%. A solução resultante era titulada com uma solução de NaOH 0,1 mol/L até aparecimento de coloração rósea persistente por aproximadamente 30 segundos.

O escore de condição corporal foi determinado com escala de 1 a 5 (HUTJENS, 2018), semanalmente. Por 3 dias consecutivos ao início e término do período experimental, após a ordenha da manhã as vacas foram pesadas em balança eletrônica (Filizola®). O ganho de peso total foi obtido pela diferença entre peso final e inicial. O ganho de peso diário foi o ganho total no período dividido pelo número de dias. A cada 12 dias, no sexto dia após a aplicação da dose de ST, 3 horas após a suplementação da manhã as vacas foram conduzidas para coleta de amostras de sangue por punção com tubo a vácuo dos vasos coccígeos. Após a coleta, as amostras foram mantidas refrigeradas e posteriormente centrifugadas para obtenção de plasma e soro, que foram armazenados a -20°C para posterior análise.

Foram utilizados kits comerciais para determinar as concentrações séricas de albumina (Gold Analisa Diagnóstica®), proteínas totais e glicose (Labtest®) por metodologia enzimática colorimétrica. As concentrações de ácidos graxos não esterificados (AGNE) foram determinadas por metodologia enzimática colorimétrica com kit comercial (Randox®, kit NEFA FA115), e leitura em espectofotômetro de luz ultravioleta visível (Nanodrop®).

Para a análise dos dados das características de produção e qualidade do leite a unidade experimental foi a vaca em cada semana. Para a produção de leite foi utilizada a média semanal. Para estimar a composição média do leite (teores de gordura, proteína, caseína, lactose, sólidos totais e nitrogênio ureico do leite), assim como da CCS em cada semana, os valores das 4 amostras analisadas foram ponderados pela produção da respectiva ordenha amostrada.

A produção média de componentes do leite (quantidades de gordura, proteína, caseína e lactose) foi calculada pelo produto da produção média semanal com o teor médio de cada componente na semana. Para as propriedades físico-químicas do leite foi utilizado o valor de uma amostra composta de duas ordenhas em cada semana. A produção de leite corrigida pela energia (PCE) foi calculada conforme descrito por Tyrrell (1961). O escore de células somáticas foi calculado pela fórmula:  $ECS=\log_2((CCS+1)/100)+3$ . Para os metabólitos sanguíneos, foram analisados os valores de cada ciclo de 12 dias (6º dia após a aplicação de rBST).

Os dados foram submetidos à análise de variância, em um arranjo fatorial com medidas repetidas ao longo do tempo, utilizando o procedimento MIXED do pacote estatístico SAS®. As características de produção e composição do leite e o ECC foram analisadas como medidas repetidas dentro da semana e os indicadores sanguíneos como medidas repetidas dentro do período de aplicação do rBST. O modelo estatístico incluiu os efeitos fixos do bloco, da semana ou período, dos fatores suplementação de rBST e tipo de SBM e das interações entre os fatores, da semana com os fatores semana, a interação tripla entre estes e do erro experimental. Como pequenas diferenças entre as variáveis avaliadas existiram entre os grupos ao início do experimento, os valores para cada destas antes da aplicação dos tratamentos foram usados como covariável, sendo a média de 3 dias para produção de leite, de 2 dias para a composição do leite, de um dia para as propriedades físico-químicas, de uma coleta para os indicadores sanguíneos e uma avaliação para ECC.

Para as características relacionadas ao peso vivo o modelo incluiu os efeitos fixos do bloco, dos fatores suplementação de ST e tipo de SBM, da interação entre estes e 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 Shapiro-Wilk com significância de 0,05. Variáveis foram consideradas com diferença significativa quando  $P \leq 0,05$ , quando  $0,05 < P \leq 0,10$  foi considerada tendência. As interações foram exploradas por teste de LSD a 5% de significância.

## RESULTADOS

As médias  $\pm$  desvios padrões de todos os tratamentos durante as 4 semanas de avaliação foram  $20,4 \pm 3,68$  kg de leite/dia e a produção de leite corrigida pela energia  $23,8 \pm 4,17$  kg/dia. Para os teores de componentes do leite as médias foram de: gordura  $4,39 \pm 0,69$ , proteína total  $3,68 \pm 0,31$ , lactose  $4,55 \pm 0,26$ , caseína  $2,90 \pm 0,28$  e nitrogênio ureico do leite  $22,10 \pm 2,43$ . A produção média diária de componentes foi de: gordura  $0,885 \pm 0,187$  kg/dia, proteína total  $0,742 \pm 0,117$  kg/dia, lactose  $0,927 \pm 0,174$  kg/dia e caseína  $0,584 \pm 0,089$  kg/dia. O escore de células somáticas médio foi de  $3,02 \pm 1,78$ . O peso médio final foi de  $391 \pm 39,2$  kg. O escore de condição corporal médio foi de  $2,97 \pm 0,24$ . Para as características físico-químicas do leite os valores médios foram de: pH  $6,57 \pm 0,11$ , acidez titulável  $16,34 \pm 1,51^{\circ}\text{D}$  e graduação alcoólica ao que o leite foi estável de  $75,10 \pm 4,35^{\circ}\text{GL}$ . Para o soro as variáveis de perfil metabólico, medidas e soro, as médias gerais foram de: proteína total  $68,8 \pm 1,52$  g/L, albumina  $26,5 \pm 0,70$  g/L, globulinas  $42,3 \pm 1,58$  g/L, glicose  $57,6 \pm 9,35$  g/L e de ácidos graxos não esterificados de  $0,21 \pm 0,10$  mmol/L.

Houve interação entre o tipo de SBM e a suplementação de rBST ( $P = 0,033$ ) sobre a produção de leite (Tabela 11, Figura 4 A e B). A suplementação combinada resultou em aumento significativo (+1,5 kg/dia) em relação ao uso isolado de qualquer das tecnologias, e um aumento de 4,9 kg/dia em relação ao não uso de pSBM ou de rBST. Tanto a suplementação de rBST quanto a de pSBM resultaram em aumentos similares de produção de leite (2,4 kg/dia), comparadas ao tratamento que não recebeu quaisquer dos suplementos.

Houve tendência de interação entre os tipos de suplementação ( $P = 0,06$ ) para a produção de leite corrigida, conforme Tabela 11 e Figura 4C e 1D, mostrando de modo similar a produção de leite, que a suplementação com rBST adicional ao pSBM foi superior a de pSBM ou de rBST isoladas (+ 1,85 kg/dia), e também frente ao não uso dos suplementos (+5,6 kg/dia) (Tabela 11 e Figura 4A, B, C e D).

O teor de gordura do leite não foi diferente quando do uso de SBM ou pSBM ( $P = 0,64$ ) ou da inclusão de rBST ( $P = 0,71$ ). O teor de proteína total do leite foi menor para vacas suplementadas com pSBM ( $P < 0,01$ ) (3,73% para SBM versus 3,61% para pSBM). O mesmo foi observado para o teor de caseína,

com 2,90% para as vacas suplementadas com SBM e 2,85% para as vacas suplementadas com pSBM ( $P = 0,03$ ). Não houve efeito de rBST sobre o teor de proteína total ( $P = 0,82$ ) ou sobre o teor de caseína ( $P = 0,87$ ). O teor de lactose foi significativamente maior para vacas suplementadas com rBST (4,67%) comparada às não suplementadas (4,59%) ( $P < 0,01$ ). Os resultados detalhados são apresentados na Tabela 11.

Houve efeito do tipo de SBM sobre a produção diária de gordura ( $P < 0,01$ ), com 0,839 kg/dia para as vacas recebendo SBM contra 0,924 kg/dia para pSBM. A suplementação com rBST também aumentou a produção de gordura, com 0,831 kg/dia para as vacas não suplementadas e 0,932 kg/dia para as suplementadas com rBST ( $P < 0,01$ ) (Tabela 11). Houve tendência para a interação entre os tipos de suplemento ( $P = 0,08$ ), apontando que a suplementação combinada de pSBM e rBST, seria mais efetiva que o uso isolado de pSBM ou de rBST (Tabela 11 e Figura 4E e F).

Houve interação ( $P=0,018$ ) entre tipo de SBM e suplementação de rBST para a produção diária de proteína (Tabela 11 e Figura 5A e B). A suplementação simultânea de rBST e pSBM resultou em produção maior de proteína total do leite (0,800 kg/dia) que o efeito isolado do pSBM (0,747 kg/dia) ou do tratamento sem qualquer suplementação (0,644 kg/dia). As vacas que receberam SBM+rBST produziram 0,770 kg/dia de proteína, não diferindo da suplementação combinada ou da suplementação apenas com pSBM, mas sim do não uso dos suplementos.

Para a produção diária de lactose, houve efeito do tipo de SBM ( $P < 0,01$ ) com 0,865 kg/dia para as vacas recebendo SBM e 0,864 kg/dia para pSBM, conforme apresentado na Tabela 11.

A produção diária de caseína foi maior ( $P < 0,01$ ) para as vacas suplementadas com pSBM (0,609 kg/dia) comparada às suplementadas com SBM (0,562 kg/dia) (Tabela 11). Houve efeito de interação entre o tipo de SBM e a suplementação com rBST ( $P = 0,02$ ) (Figura 5C e Figura 5D). O uso de rBST concomitante a suplementação com pSBM mostrou-se superior ao efeito isolado do pSBM, e ao tratamento sem suplementação. O tratamento recebendo SBM+rBST não diferiu do uso combinado de pSBM+rBST e nem do uso isolado de pSBM, mas foi superior ao tratamento sem rBST ou pSBM.

Não houve diferença no ECS entre tipo de SBM ( $P = 0,76$ ) a suplementação com rBST ( $P = 0,40$ ; Tabela 11). Houve tendência ( $P = 0,06$ ) para o pH do leite quanto ao tipo de SBM suplementado (6,59 para SBM *versus* 6,54 para pSBM) (Tabela 11). As demais características físico-químicas (acidez titulável e estabilidade ao teste do álcool) não foram alteradas pelo tipo de SBM ou pela suplementação de rBST (Tabela 11).

Todas os tratamentos resultaram em elevados teores de nitrogênio ureico no leite (>21 mg/dL), sem diferenças quanto ao tipo de SBM ( $P = 0,80$ ) ou a suplementação de rBST ( $P = 0,62$ ) (Tabela 11).

O peso vivo final, ganho de peso diário e ganho de peso total das vacas diferiu ( $P=0,03$ ), com 7,9 kg a mais no peso final e total, e 0,176 kg/dia para o ganho de peso diário quando as vacas foram suplementadas com rBST (Tabela 11). Não houve diferenças quanto ao escore de condição corporal (ECC) para os tipos de SBM ( $P = 0,76$ ) ou de ST ( $P = 0,40$ ) (Tabela 11).

O perfil metabólico é apresentado na Tabela 12. Os valores de proteína sérica total foram menores ( $P = 0,003$ ) para vacas recebendo pSBM (66,16 g/L) comparadas às vacas recebendo SBM (71,27 g/L). Efeito similar ( $P < 0,001$ ) ocorreu quando a rBST foi suplementada (65,74 *versus* 71,10 g/L). Para albumina, houve interação entre o tipo de SBM e a suplementação com rBST ( $P = 0,024$ ), com valores significativamente menores para vacas recebendo SBM e rBST simultaneamente (23,81 g/L), também houve o efeito do tipo de SBM ( $P = 0,028$ ), com valores mais altos para vacas recebendo pSBM (27,41 *versus* 25,42 g/L). Quanto as globulinas, houve efeito do tipo de SBM ( $P < 0,001$ ) para vacas recebendo SBM (47,34 *versus* 37,80 g/L), e houve tendência a interação ( $P = 0,099$ ) entre o tipo de SBM e a suplementação com rBST, mostrando menor valor para vacas recebendo simultaneamente pSBM e rBST (35,50 g/L). Não houve efeito de tipo de SBM ( $P = 0,335$ ) ou rBST ( $P = 0,252$ ) sobre o nível de glicose sérico. O teor de ácidos graxos não esterificados foi maior ( $P = 0,002$ ) para vacas recebendo rBST (0,236 mmol/L) comparada às não suplementadas (0,185 mmol/L).

Tabela 11. Média dos quadrados mínimos, erro padrão da média (EPM) e valor de P para produção de leite, produção corrigida pela energia (ECM), composição, produção de componentes, características físico-químicas, peso vivo e escore de condição corporal (ECC) de vacas suplementadas com farelo de soja (SBM), farelo de soja protegido (pSBM) com ou sem somatotropina bovina recombinante (rBST).

Item	Tipo de SBM		rBST			Tratamento <sup>1</sup>					Valor de P		
	SBM	pSBM	Não	Sim	EPM	SBM	pSBM	SBM+rBST	pSBM+rBST	EPM	Tipo de SBM	ST	Tipo de SBM x ST
Leite, kg/d	19,1	21,6	19,1	21,6	0,315	17,4C	20,8B	20,8B	22,3A	0,440	<0,001	<0,001	0,033
LCE <sup>2</sup> , kg/d	22,4	25,1	22,3	25,2	0,372	20,5C	24,1B	24,4B	26,1A	0,520	<0,001	<0,001	0,067
Gordura, %	4,40	4,35	4,36	4,39	0,064	4,40	4,33	4,40	4,39	0,140	0,642	0,708	0,753
Proteína, %	3,73	3,61	3,68	3,67	0,028	3,72	3,63	3,74	3,60	0,040	0,004	0,823	0,474
Lactose, %	4,61	4,65	4,59	4,67	0,018	4,58	4,61	4,65	4,70	0,027	0,104	0,003	0,625
Caseína, %	2,896	2,85	2,91	2,90	0,027	2,95	2,87	2,97	2,83	0,039	0,003	0,856	0,390
Gordura, kg/d	0,839	0,924	0,831	0,932	0,015	0,770C	0,892B	0,908AB	0,957A	0,021	<0,001	<0,001	0,080
Proteína, kg/d	0,707	0,773	0,695	0,785	0,010	0,644C	0,747B	0,770AB	0,800A	0,015	<0,001	<0,001	0,018
Lactose, kg/d	0,865	0,988	0,864	0,989	0,015	0,786	0,942	0,944	1,034	0,210	<0,001	<0,001	0,112
Caseína, kg/d	0,562	0,609	0,550	0,620	0,009	0,512C	0,589B	0,612AB	0,628A	0,013	<0,001	<0,001	0,020
ECS, log2	3,26	2,83	2,79	3,29	0,246	2,96	2,63	3,57	3,02	0,348	0,213	0,161	0,753
pH	6,59	6,54	6,57	6,57	0,017	6,59	6,54	6,59	6,55	0,264	0,061	0,968	0,868
AT <sup>3</sup> , °D	16,17	16,62	16,16	16,64	0,210	15,78	16,54	16,56	16,70	0,334	0,152	0,138	0,362
Alcool <sup>4</sup> , °GL	75,84	74,4	75,36	74,87	0,702	76,24	74,49	75,44	74,31	1,152	0,172	0,642	0,784
NUL <sup>5</sup> , mg/dL	22,25	21,96	22,00	22,21	0,372	22,35	22,15	21,68	22,19	0,646	0,809	0,628	0,594
Peso Vivo, kg	390,1	390,1	386,7	394,7	2,470	387,4	386,5	393,7	395,6	3,999	0,938	0,029	0,660
GPD <sup>6</sup> , kg/dia	0,198	0,204	0,113	0,289	0,055	0,13	0,10	0,27	0,31	0,089	0,938	0,029	0,660
GP <sup>7</sup> total, kg	8,91	9,19	5,09	13,01	2,470	5,78	4,40	112,04	13,98	3,999	0,938	0,029	0,660
ECC <sup>8</sup> , 1-5	2,97	2,96	2,98	2,95	0,026	2,98	2,99	2,97	2,93	0,039	0,760	0,407	0,565

<sup>1</sup>SBM= farelo de soja convencional, pSBM= farelo de soja protegido, SBM+rBST= farelo de soja convencional e somatotropina e pSBM+rBST= farelo de soja protegido+ somatotropina. <sup>2</sup>Leite corrigido pela energia (TYRRELL; REID, 1965). <sup>3</sup>AT= Acidez titulável, medida em graus Dornic (°D). <sup>4</sup>Maior graduação alcoólica, em graus Gay-Lussac (°GL) que o leite não formou grumos. <sup>5</sup>Nitrogênio ureico do leite. <sup>6</sup>Ganho de peso diário. <sup>7</sup>Ganho de peso total. <sup>8</sup>Escore de condição corporal. Letras diferentes, diferem por teste de médias LSD com 5% de significância.

Tabela 12. Média dos quadrados mínimos, erro padrão da média (EPM) e valor de P para perfil metabólico de vacas suplementadas com farelo de soja (SBM), farelo de soja protegido (pSBM) e/ou somatotropina bovina recombinante (rBST).

Item	Tipo de SBM				EPM	Tratamento <sup>1</sup>				EPM	Valor de P		
	SBM	pSBM	Não	Sim		SBM	pSBM	SBM+rBST	pSBM+rBST		Tipo de SBM	ST	Tipo de SBM x ST
Proteína total, g/L	71,27	66,16	71,70	65,74	1,214	75,14	68,25	67,40	64,07	1,756	0,003	<0,001	0,293
Albumina, g/L	25,42	27,41	26,97	25,87	0,627	27,04A	26,89A	23,81B	27,92A	0,978	0,028	0,301	0,024
Globulinas, g/L	47,34	37,80	43,62	41,53	1,975	46,12A	41,11AB	48,56A	35,50B	2,901	<0,001	0,451	0,099
Glicose, mg/dL	58,59	56,62	56,48	58,72	1,357	57,02	55,95	60,17	57,29	2,000	0,335	0,252	0,615
AGNE <sup>2</sup> , mmol/L	0,204	0,218	0,185	0,236	0,0111	0,185	0,186	0,223	0,250	0,016	0,377	0,002	0,423

<sup>1</sup>SBM= farelo de soja convencional, pSBM= farelo de soja protegido, SBM+rBST= farelo de soja convencional e somatotropina e pSBM+rBST= farelo de soja protegido+ somatotropina.

<sup>2</sup>AGNE = Ácidos graxos não esterificados

Letras diferentes, diferem por teste de médias LSD com 5% de significância

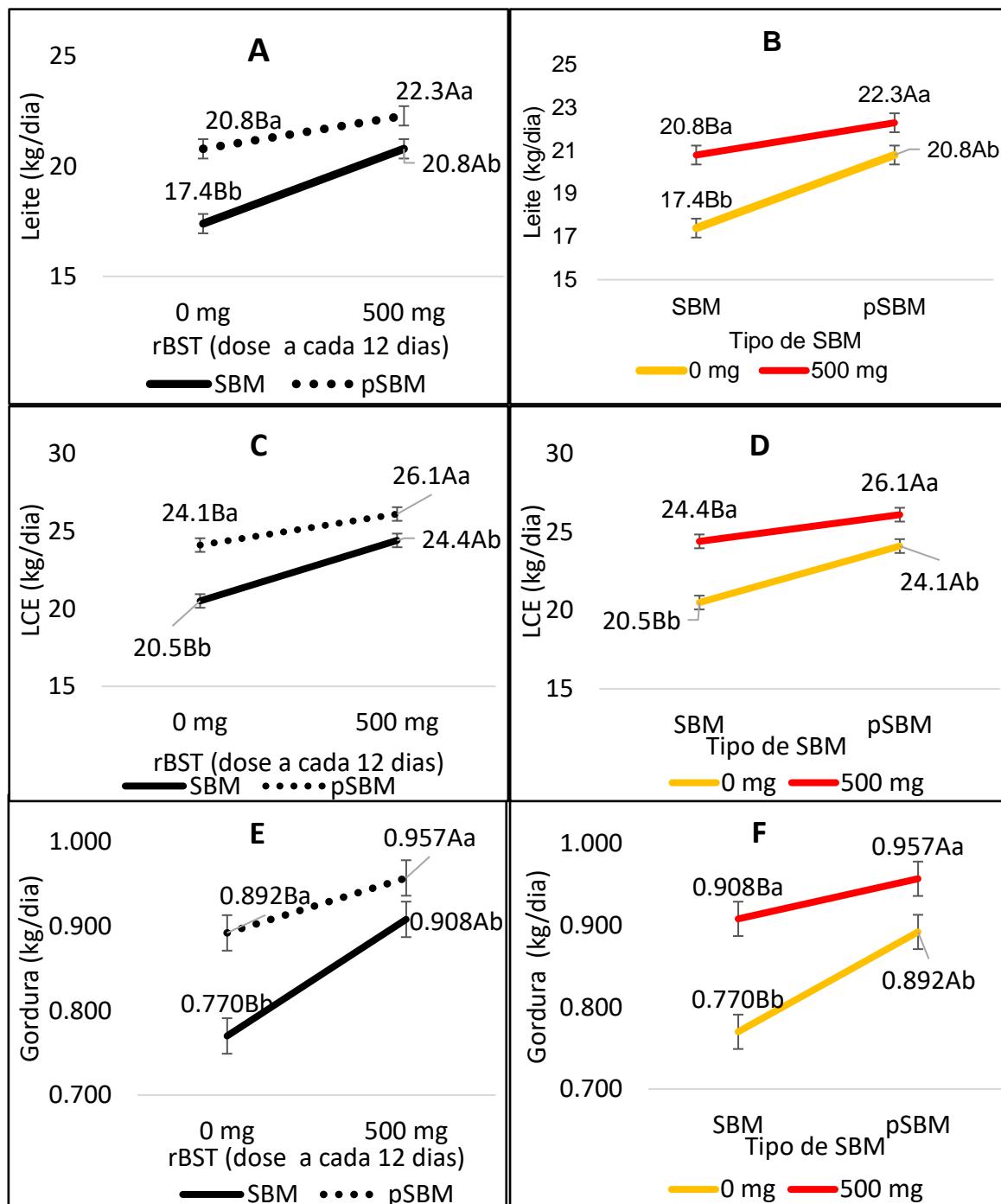


Figura 4. Efeito da suplementação de farelo de soja (SBM) ou farelo de soja protegido (pSBM) associado ou não a somatotropina bovina recombinante (rBST) para produção de leite (A e B), produção de leite corrigida pela energia (LCE) (C e D), e produções diárias de gordura (E e F) de vacas Jersey consumindo pastagem tropical.

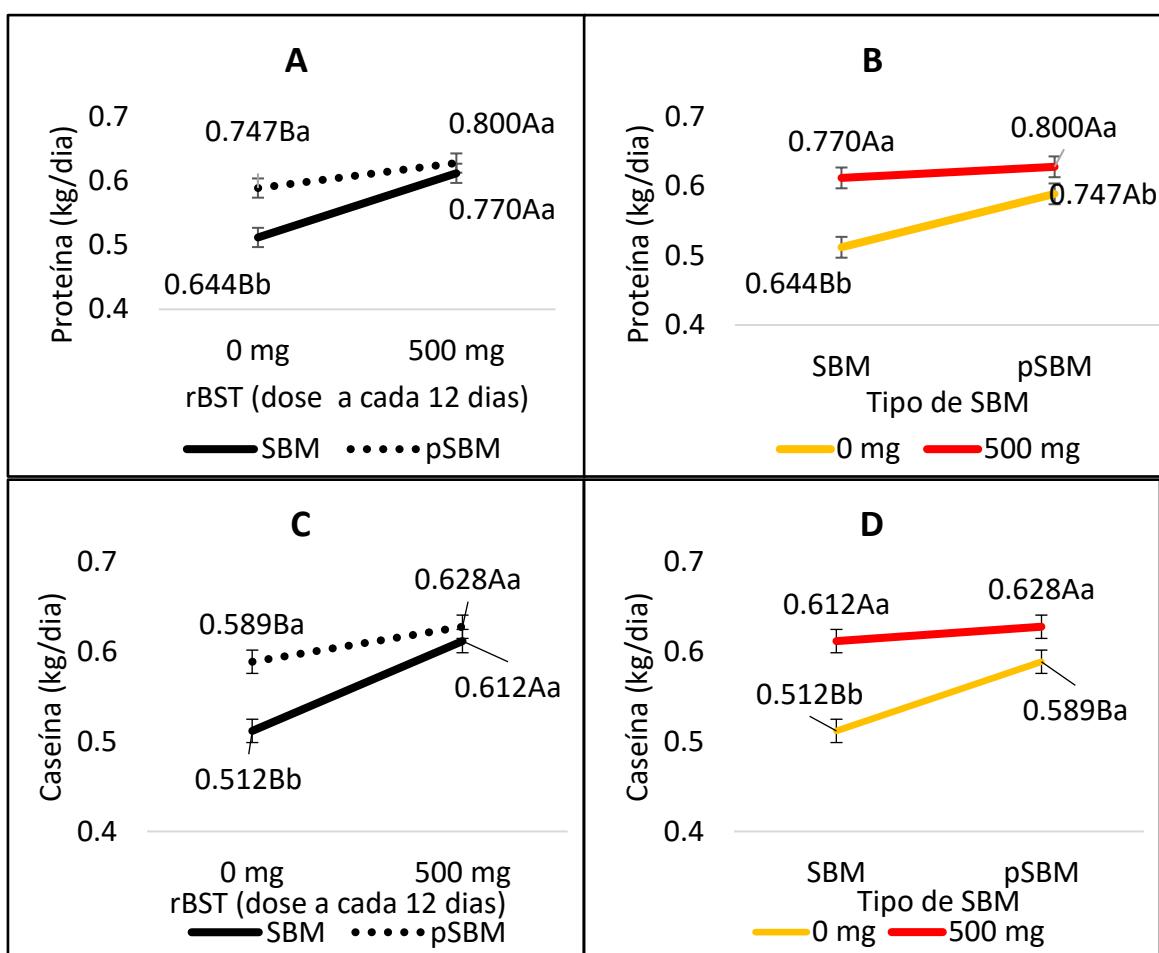


Figura 5. Efeito da suplementação de farelo de soja (SBM) ou farelo de soja protegido (pSBM) associado ou não a somatotropina bovina recombinante (rBST) para produções diárias de proteína (A e B) e caseína (C e D) de vacas Jersey consumindo pastagem tropical

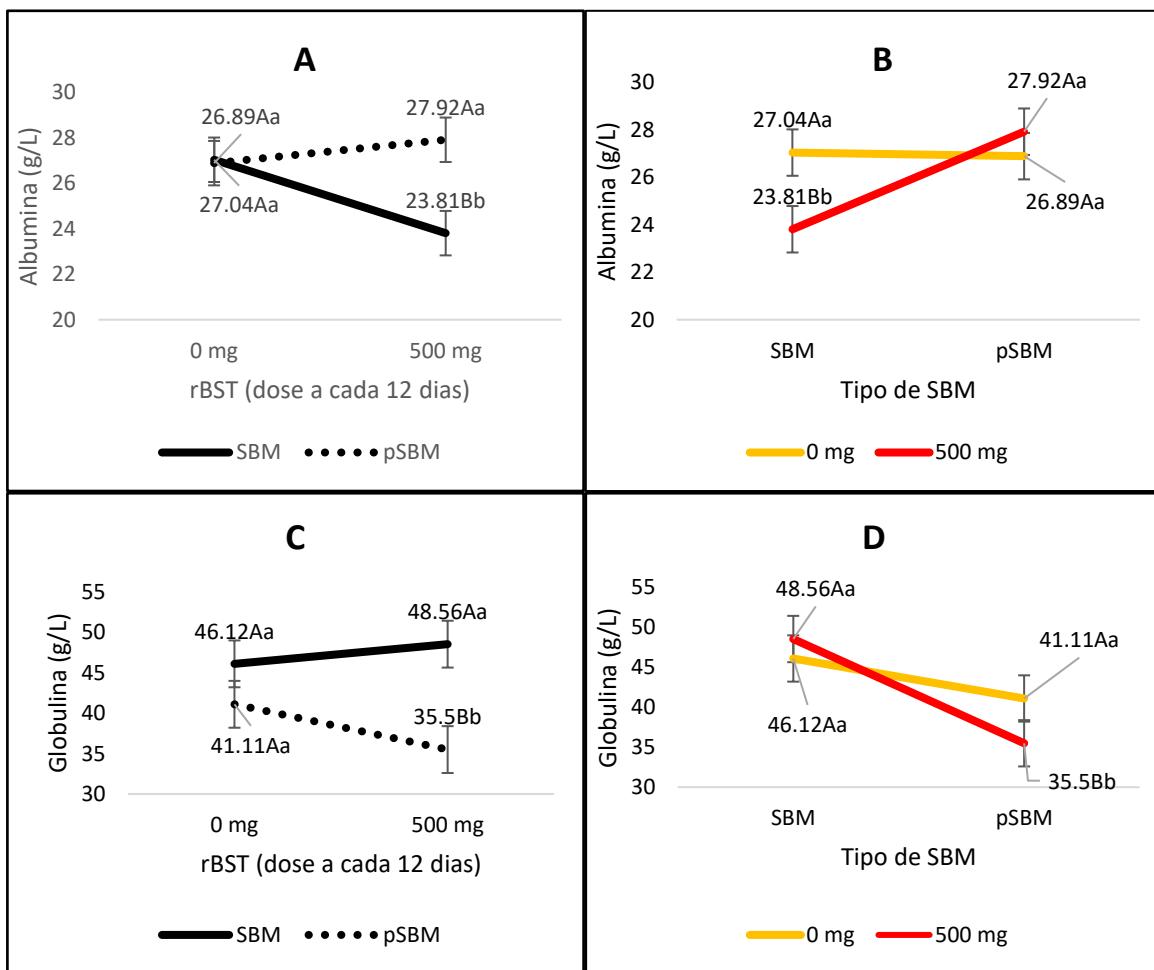


Figura 6. Efeito da suplementação de farelo de soja (SBM) ou farelo de soja protegido (pSBM) associado ou não a somatotropina bovina recombinante (rBST) para as concentrações séricas de albumina (A e B) e globulinas (C e D), de vacas Jersey consumindo pastagem tropical

## DISCUSSÃO

Os dados resultados do experimento demonstram que vacas Jersey mantidas em pastagens tropicais e com suplementação concentrada moderada atingem níveis de produção de leite ao redor de 20 kg/dia (Tabela 11). Resultados similares são reportados com a suplementação de 6 kg/dia de concentrado para vacas pastejando quicuio (*Pennisetum clandestinum*) (VAN WYNGAARD; MEESKE; ERASMUS, 2015) e em pastagens de capim elefante (*Pennisetum purpureum*) (DANES et al., 2013). Esse desempenho é próximo ao atingido em sistemas pastoris de clima temperado (DINEEN et al., 2021; HIGGS et al., 2013; HILLS et al., 2015), adotados em países exportadores e considerados competitivos frente a modelos de produção mais intensivos (DILLON et al., 2005; JACOBS, 2014).

A existência de interação ou de tendência a interação entre a suplementação com pSBM e com rBST (Tabela 11, Figura 4Figura 5), para grande parte das variáveis do desempenho produtivo, demonstra que ambas as tecnologias foram efetivas na melhoria do desempenho produtivo, e a associação de ambas se mostra superior ao seu uso isolado, visto que as vacas nos tratamentos pSBM+rBST tiveram a maior produção de leite e de leite corrigido pela energia.

O incremento na produção de leite pela suplementação de rBST, que foi de 2,5 kg/dia e o incremento na produção de leite corrigido pela energia, que de 2,9 kg/dia são compatíveis com outros trabalhos que demonstram incremento de produção de leite de 2 a 6 kg/dia, duas semanas após a primeira aplicação de rBST (CHILLIARD, 1988; FESSEHA; ALIYE; TEMESGEN, 2019; HUBER et al., 1997; HUTJENS, 2008), com o maior desempenho produtivo sendo atingido próximo a dose de 50 mg/dia (EPPARD; BAUMAN; MCCUTCHEON, 1985), próxima da dose utilizada no nosso experimento (500 mg a cada 12 dias). A rBST estimula as células secretoras com a mudança na partição de energia, poupando glicose, aminoácidos e estimulando a oxidação de ácidos graxos para suportar o aumento em produção de leite (ETHERTON; BAUMAN, 1998; ST-PIERRE et al., 2014). Também ocorre aumento na síntese do fator de crescimento semelhante a insulina tipo-1 (IGF-1) no fígado e localmente, na glândula mamária. O IGF-1 sinaliza à célula de que há suficiente disponibilidade de nutrientes, o que atrasa a apoptose celular e aumenta a expressão de proteínas (GOBIKRUSHANTH et al., 2018; RHOADS et al., 2008). Além do aumento na taxa metabólica celular, o IGF-1 aumenta o débito cardíaco, a frequência cardíaca e causa vasodilatação local para aumentar o fluxo sanguíneo na glândula mamária, aumentando assim, a produção de leite (FESSEHA; ALIYE; TEMESGEN, 2019), o que possivelmente pode explicar os resultados encontrados em nosso experimento.

A suplementação de pSBM aumentou a produção de leite em 2,5 kg/dia e a produção de leite corrigida pela energia em 2,6 kg/dia em relação à SBM, sendo que os trabalhos com suplementação de fontes de proteína protegidas da degradação ruminal mostram resultados diversos (NASEM, 2021). No entanto, a substituição de SBM por fontes de proteína protegida oriundas de soja em dietas de vacas confinadas apresenta aumentos consistentes no desempenho

produtivo de 2,5% (IPHARRAGUERRE; CLARK, 2005b). A composição de AA do pSBM, pelo valor biológico, quando protegida da degradação ruminal, é apontada como o mecanismo que suporta a maior produção de leite (IPHARRAGUERRE; CLARK, 2005a; MALACCO et al., 2021). Atualmente, o aporte de lisina, metionina, leucina, isoleucina, histidina e outros AA essenciais, é considerado preditor da produção de proteína, sendo esses AA os mais comumente limitantes para vacas em lactação (NASEM, 2021). Também é sugerido um efeito estimulante desses AA na glândula mamária aumentando a produção de leite de 1,2 a 4,3 kg/dia e a síntese de lactose e proteína (LAPIERRE et al., 2010). O maior aporte de AA tem efeito estimulante sobre o alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR), especialmente de AA de cadeia ramificada (FLYNN; SHAW; BECKER, 2020). O mTOR regula o crescimento, proliferação, motilidade, sobrevivência, síntese proteica, autofagia e transcrição celular, através da maior expressão de IGF-1 (DANES et al., 2020; OSORIO; LOHAKARE; BIONAZ, 2016; WANG et al., 2014; YODER et al., 2020). Assim, a substituição do SBM por pSBM neste experimento, pode ter aumentado a proteína metabolizável resultando em aumento na produção de leite (DOEPEL; LAPIERRE, 2010; LAPIERRE et al., 2010). A mediação de efeitos da rBST e do maior aporte de AA através do IGF-1 pode não ter sido efetiva em aumentar o desempenho produtivo além do efeito isolado pela limitação de nutrientes (MOLENTO et al., 2002). No entanto, o aporte de AA pelo uso de pSBM pode ter suportado o efeito do rBST, já que o uso de ambas as tecnologias teve um melhor desempenho que o uso isolado de uma delas (pSBM ou rBST). Assim, pode-se optar pela suplementação de pSBM ou de rBST, que de forma isolada, mostram resultados similares, e há vantagens no uso combinado.

A suplementação com rBST tem pouco efeito sobre a composição do leite e alterações são vistas apenas em curtos períodos e no início da suplementação (HUTJENS, 2008; NRC, 2001). O aumento na concentração de lactose no leite, de 4,59 para 4,67% em função da suplementação com rBST podem estar relacionadas ao fato de que variações na concentração de glicose circulante geram um efeito diabetogênico transitório em vacas suplementadas com rBST e um aumento nos níveis de lactose do leite (CAPUCO; AKERS, 2011), como o observado nesse estudo. Os teores mais baixos de proteína total e de caseína do leite de vacas que recebem pSBM, comparado ao leite das vacas recebendo

SBM (Tabela 11) estão associados ao aumento na produção de leite, de proteína e de caseína (pSBM: leite = 21,6 kg/dia; proteína total = 3,61% e 0,773 kg/dia e caseína = 2,85% e 0,609 kg/dia vs. SBM: leite = 19,1 kg/dia, proteína total = 3,73% e 0,707 kg/dia e caseína = 2,90% e 0,562 kg/dia), o que sugere um efeito de diluição. Em dois estudos metanalíticos com a substituição do SBM por fontes de proteína protegida na dieta de vacas em lactação, a redução nos teores de proteína do leite esteve associada à maior produção de leite (IPHARRAGUERRE; CLARK, 2005; SANTOS et al., 1998), tal qual o ocorrido neste estudo.

Quando combinadas, as suplementações de rBST e de pSBM aumentaram as produções diárias de proteína, caseína e tendem a aumentar a produção diária de gordura, frente ao aumento isolado que cada uma produz. Em um experimento com rBST e insulina administradas isoladamente na corrente sanguínea de vacas, ocorre aumento nas produções de leite, proteína e caseína, porém quando associadas, não foi observada diferença frente ao uso isolado, apesar de a associação aumentar a concentração de IGF-1 (MOLENTO et al., 2002). Isso sugere que da mesma forma que para as produções de leite ou leite corrigido pela energia, o uso combinado traz ganhos produtivos, enquanto no uso isolado, as suplementações produzem respostas similares.

Com exceção da tendência de pH mais baixo (0.05 unidade de pH) associado a suplementação com pSBM, tanto a suplementação com rBST, como a substituição de SBM por pSBM, não alteram as propriedades físico-químicas do leite (Tabela 11), o que pode ser esperado visto que as suplementações não afetam o consumo de energia, de modo que pudessem produzir tais alterações (GABBI et al., 2018; MACHADO et al., 2014). Os valores reportados se situam dentro das faixas normatizadas legalmente no Brasil e outros países (HANSEN; FERRÃO, 2018; THALER NETO et al., 2017). A mudança em pH do leite, não sendo acompanhado de mudança significativa na acidez titulável, torna pouco provável um impacto a posterior transformação do leite em derivados.

Uma diminuição na concentração sérica de proteínas totais em vacas que recebem rBST, assim nas que receberam pSBM em substituição ao SBM () deve estar relacionada aos fatores que aumentam desempenho produtivo nestas vacas (Tabela 11). Isso contraria o que é reportado por González e da Silva (2017), de que a rBST é uma promotora de aumento nos níveis sanguíneos de

proteína total. O teor de proteínas totais é apontado como um indicador de mudanças de longo prazo no nível proteico da dieta, digestibilidade e composição dos aminoácidos, nível energético da dieta (DA SILVA; BONDAN; GONZÁLEZ, 2022).

As vacas no tratamento SBM+rBST têm menores teores de albumina sérica comparadas as vacas nos tratamentos SBM, pSBM e pSBM+rBST (Tabela 12). A albumina é uma proteína de fase aguda negativa, e a sua diminuição é observada em vacas doentes e com função hepática ou renal comprometida, porém os valores nessas condições são inferiores aos aqui relatados (GONZÁLEZ; DA SILVA, 2017; GONZALEZ; ROCHA, 1998). A diminuição pode estar associada a maior demanda de AA para a produção de leite e proteína no leite que as vacas no tratamento SBM+rBST tiveram, nesse caso a o maior aporte de AA dos tratamentos com pSBM pode ter prevenido essa diminuição.

Teores séricos mais elevados de AGNE, observados nas vacas suplementadas com rBST (Tabela 12) são esperados, visto que a elevação dos níveis de AGNE é relatada como um dos mecanismos que suportam a maior demanda de energia pela suplementação de rBST (FESSEHA; ALIYE; TEMESGEN, 2019; SHIBRU, 2016), especialmente nas fases iniciais da suplementação e para vacas em balanço energético negativo (KLEIN, 2014). Em nosso estudo, os valores encontrados não ultrapassam aqueles reportados para vacas consideradas saudáveis (LEBLANC, 2010), no entanto mostram que o aumento em produção de leite advindo da suplementação de rBST parece em parte ser suportado pela mobilização de reservas de gordura corporal.

Para avaliação dos metabólitos sanguíneos, foram determinadas as concentrações séricas de proteínas totais, albumina, globulinas, glicose e ácidos graxos não esterificados. Os níveis de proteínas séricas totais, albumina, globulinas e glicose (Tabela 12) se encontram dentro dos valores relatados em experimentos conduzidos no sul do Brasil (DA SILVA; BONDAN; GONZÁLEZ, 2022; PELIZZA et al., 2019). Apesar dos efeitos conhecidos da rBST sobre o débito e frequência cardíaca (DAVIS et al., 1988), o volume sanguíneo não é reportado na literatura. Alterações no volume sanguíneo, como o aumento relatado em humanos (CHRIST et al., 1997; LINDERKAMP et al., 1977) podem diluir os constituintes e limitar as comparações entre teores.

## CONCLUSÕES

Para vacas consumindo pastagem perene de estação quente, a suplementação com somatotropina bovina recombinante ou farelo de soja protegido aumentam a produção de leite, produção de leite corrigida e as produções diárias de gordura, proteína total, lactose e caseína.

O aumento de produção decorrente do uso de somatotropina bovina recombinante é suportado pelo aumento de ácidos graxos não esterificados na circulação sanguínea.

O uso combinado da somatotropina bovina recombinante e de farelo de soja protegido produz efeitos maiores que o uso isolado de cada um deles sobre a produção de leite, de leite corrigido pela energia e as produções diárias de componentes do leite.

Em tais condições, a suplementação de farelo de soja protegido mimetiza os efeitos que a suplementação com somatotropina bovina recombinante tem sobre o desempenho produtivo.

## CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os três experimentos que compõe esta tese buscaram investigar o efeito da suplementação de farelo de soja protegido em substituição ao farelo de soja convencional, associado ou não a suplementação de somatotropina bovina recombinante. Essa construção se fez buscando investigar o mecanismo por traz de respostas produtivas encontradas para a suplementação de fontes de PNDR para vacas em pastejo.

A disponibilidade de instalações, maquinário, bem como área de cultivo e corte no CAV/UDESC em Lages foram utilizados para os dois primeiros experimentos. Ambos os experimentos foram delineados para avaliar o efeito da suplementação com PNDR com ou sem rBST sobre o consumo de alimento pelas vacas. A nossa hipótese inicial era que o consumo explicaria um possível aumento na produção de leite em função da suplementação com PNDR e/ou rBST, a qual não foi confirmada nos experimentos com a pastagem anual de inverno colhida e oferecida à vontade, mesmo para as vacas suplementadas com rBST, as quais apresentaram maior desempenho produtivo.

A escolha por confinar as vacas com forragem fresca, adveio da grande variabilidade e certa imprecisão que as estimativas de consumo de animais a pasto apresentam. Técnicas de desaparecimento de material, uso de marcadores internos ou externos, ou a estimativa usando a energia da dieta frente as exigências são clássicas na literatura, mas possuem desafios. O fornecimento da pastagem colhida fresca também foi uma forma de eliminar o efeito do pastejo, que é apontado como causa do menor consumo de vacas em pastejo comparado às vacas alimentadas com dietas completas. Em nossos dois experimentos admitimos que o fornecimento de forragem colhida fresca e à vontade, e a medida de seu desaparecimento

Os desafios encontrados nos dois primeiros a heterogeneidade dos animais para a formação de grupos homogêneos, por ser um rebanho com partos ao longo do ano e composto por animais e vários graus de sangue entre Holstein x Jersey. Os experimentos foram conduzidos na primavera, pois a área disponível para cultivo era de 5,3 ha e as instalações não dispunham de sistema de refrigeração para as vacas. No ano de 2019, o pasto foi cortado e servido aos animais antes da instalação do experimento, com cortes iniciando em junho e

terminando em julho/2019. Apenas na última semana de setembro/2019 houve suficiente disponibilidade de pasto para corte, de modo que não fosse necessário interromper o experimento. Isso atrasou a instalação do experimento para 01/10/2019, em função da estiagem que se agravou durante o período de execução (FAESC, 2020), prejudicando o crescimento e qualidade do azevém.

No experimento de 2020, um protocolo similar foi adotado, porém em arranjo fatorial 2x2, utilizando 16 vacas. O inverno e primavera de 2020 foram marcados em parte pelo prolongamento da estiagem iniciada em 2019 (AGRO EM DIA, 2020), com prejuízo à produção do pasto. Para evitar que o experimento fosse interrompido, foi decidido pela soltura das vacas em pastagens da mesma espécie e continuidade no fornecimento dos tratamentos, com a estabulação das vacas para as coletas sanguíneas e avaliações de consumo.

Dentre as limitações do nosso estudo, relativo aos experimentos 1 e 2 (realizados em 2019 e 2020), podemos apontar que no experimento 1 as dietas precisaram ser diferentes da proposta inicial (aumentando de 6 para 12 kg/vaca/dia a quantidade de suplemento concentrado na matéria natural) e a execução com pastos de qualidade inferior ao reportado para azevém. No experimento 02, as dietas refletiram mais as condições comumente observadas a campo e na literatura para vacas consumindo pastagem de azevém e recebendo 6 kg/dia de concentrado na matéria natural, porém o consumo avaliado não foi em todo o período, mas de recortes de 3 dias nos ciclos 3 e 4 de aplicação de rBST.

No experimento de verão, nosso objetivo foi explorar com maior número de vacas, o efeito dos fatores suplementação com diferentes tipos de farelo de soja (protegido ou convencional) com ou sem rBST sobre o desempenho produtivo. As respostas em produção de leite e componentes, mostram que a suplementação com o farelo protegido (fonte de PNDR) ou com rBST produzem efeitos similares. A não soma de efeitos dos suplementos sobre grande parte do desempenho produtivo, confirma em parte nossa hipótese inicial de que ambos atuam por vias similares. A próxima etapa deste trabalho será avaliar os níveis circulantes de IGF-1, para atender a uma das hipóteses iniciais da proposta de doutorado de que o aumento no desempenho produtivo seria acompanhado de maiores níveis circulantes de IGF-1. Caso se confirme o aumento que é descrito na literatura para a suplementação com rBST, mas apenas sugerido como uma

das vias de atuação de alguns AA, nossa hipótese inicial será reforçada. No entanto, a complexidade dos mecanismos que regulam a fisiologia da lactação e a forma de interação entre a vaca, o estágio de lactação, a dieta e o ambiente, demandam muitos mais experimentos que possam isolar e avaliar tais efeitos e sua interação.

O aumento no desempenho produtivo obtido pela suplementação com rBST em todas as situações experimentais, porém com a fonte de PNDR apenas no experimento em que as vacas estavam pastejando gramíneas perenes de verão, abre lacunas. Uma delas é o efeito da suplementação de PNDR ser aparentemente ligado a restrição que as vacas pastejando tem em colher seu alimento, especialmente em pastagens de gramíneas tropicais. Também o refinamento da abordagem para determinar quais ou qual AA é responsável pelos efeitos, e a ligação das respostas às dietas, que para vacas em pastejo ainda encontram dificuldades na caracterização mais detalhada.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRO EM DIA. **Seca reduz em 20% a safra de grãos 2020/21 de Santa Catarina.** Disponível em: <<https://agroemdia.com.br/2020/12/14/seca-reduz-em-20-a-safra-de-graos-2020-21-de-santa-catarina/>>.
- ALBRIGHT, J. L. Feeding Behavior of Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 485–498, 1993.
- ALLEN, M. S. Effects of Diet on Short-Term Regulation of Feed Intake by Lactating Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1598–1624, 2000.
- ALLEN, M. S. Review: Control of feed intake by hepatic oxidation in ruminant animals: Integration of homeostasis and homeorhesis. **Animal**, v. 14, n. S1, p. S55–S64, 2020.
- ALLEN, M. S.; PIANTONI, P. Metabolic control of feed intake. Implications for metabolic disease of fresh cows. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 29, n. 2, p. 279–297, 2013.
- ALLEN, M. S.; PIANTONI, P. Carbohydrate Nutrition: Managing Energy Intake and Partitioning Through Lactation. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 30, n. 3, p. 577–597, 2014.
- AMANLOU, H.; FARAHANI, T. A.; FARSHANI, N. E. Effects of rumen undegradable protein supplementation on productive performance and indicators of protein and energy metabolism in Holstein fresh cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 5, p. 3628–3640, 2017.
- ASIMOV, G. J.; KROUZE, N. K. The Lactogenic Preparations from the Anterior Pituitary and the Increase of Milk Yield in Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 20, n. 6, p. 289–306, 1937.
- BACH, A.; TERRÉ, M.; PINTO, A. Performance and health responses of dairy calves offered different milk replacer allowances. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 12, p. 7790–7797, dez. 2013.
- BARGO, F. et al. Invited review: production and digestion of supplemented dairy cows on pasture. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 1, p. 1–42, 2003a.
- BARGO, F. et al. **Invited Review: Production and Digestion of Supplemented Dairy Cows on Pasture**. *J. Dairy Sci.* [s.l.] American Dairy Science Association, 2003b.

BATALHA, C. D. A. et al. Strategic grazing management decreases nitrogen excretion intensity of dairy cows. **Scientia Agricola**, v. 79, n. 2, 2022.

BAUDRACCO, J. et al. Effects of stocking rate, supplementation, genotype and their interactions on grazing dairy systems: A review. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 53, n. 2, p. 109–133, jun. 2010.

BAUMAN, D. E. Bovine somatotropin and lactation: From basic science to commercial application. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 17, n. 2–3, p. 101–116, 1999.

BAUMAN, D. E. et al. **Nutrient partitioning and milk yield: constraints and opportunities in the 21ST century**. Proc. Cornell Nutr. Conf. **Anais**...2004.

BAUMGARD, L. H.; RHOADS, R. P. Effects of Heat Stress on Postabsorptive Metabolism and Energetics. **Annual Review of Animal Biosciences**, v. 1, p. 311–337, 2013.

BAUMONT, R.; CHENOST, M.; DEMARQUILLY, C. MEASUREMENT OF HERBAGE INTAKE AND INGESTIVE BEHAVIOUR BY HOUSED ANIMALS. In: PENNING, P. D. (Ed.). **Herbage Intake Handbook**. 2. ed. Reading: British Grassland Society, 2004. p. 121–150.

BREMNER, D. R.; OVERTON, T. R.; CLARK, J. H. Production and Composition of Milk from Jersey Cows Administered Bovine Somatotropin and Fed Ruminally Protected Amino Acids. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 7, p. 1374–1380, 1997.

BRINCKMAN, D. **The Regulation Of rBST: The European Case**. Disponível em: <<http://www.agbioforum.org/v3n23/v3n23a15-brinckman.htm>>. Acesso em: 19 jul. 2017.

CADÓRNIGA, C.; DÍAZ, M. L. Possible modulation of adipose tissue responsiveness to catecholamines by available dietary protein in dairy cows during early lactation. **Reproduction Nutrition Development**, v. 35, n. 3, p. 241–248, 1995.

CAPUCO, A. V.; AKERS, R. M. Lactation: Galactopoiesis, Effect of Treatment with Bovine Somatotropin. **Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition**, p. 32–37, 2011.

CARVALHO, P. et al. **Importância da estrutura da pastagem na ingestão e seleção de dietas pelo animal em pastejo.** (W. R. S. Mattos, Ed.)*Anais da XXXVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Anais...* Piracicaba: 2001.

CHILLIARD, Y. Long-term effects of recombinant bovine somatotropin (rBST) on dairy cow performances. **Annales de Zootechnie**, v. 37, n. 3, p. 159–180, 1988.

CHRIST, E. R. et al. The Importance of Growth Hormone in the Regulation of Erythropoiesis , Red Cell Mass , and Plasma Volume in Adults with Growth Hormone Deficiency \*. v. 82, n. 9, p. 2985–2990, 1997.

DA SILVA, J. H.; BONDAN, C.; GONZÁLEZ, F. H. D. Metabolic Profile of Holstein Cows: Reference Values in Herds of Rio Grande do Sul - Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 50, n. March, p. 1–10, 2022.

DA SILVA, S. C.; SBRIBSSIA, A. F.; PEREIRA, L. E. T. Ecophysiology of C4 Forage Grasses—Understanding Plant Growth for Optimising Their Use and Management. **Agriculture (Switzerland)**, v. 5, n. 3, p. 598–625, 2015.

DAIRY HERD MANAGEMENT. **Manage the loss of rBST.** Disponível em: <<https://www.dairyherd.com/article/manage-loss-rbst>>. Acesso em: 19 jul. 2018.

DAIRY HERD MANAGEMENT. **rBST: The End of an Era.** Disponível em: <<https://www.dairyherd.com/article/rbst-end-era>>. Acesso em: 19 jul. 2018.

DANES, M. A. C. et al. Effect of protein supplementation on milk production and metabolism of dairy cows grazing tropical grass. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 1, p. 407–419, jan. 2013a.

DANES, M. A. C. et al. Post-ruminal supplies of glucose and casein, but not acetate, stimulate milk protein synthesis in dairy cows through differential effects on mammary metabolism. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 7, p. 6218–6232, 2020.

DANES, M. A C. et al. Effect of protein supplementation on milk production and metabolism of dairy cows grazing tropical grass. **Journal of dairy science**, v. 96, n. 1, p. 407–19, 2013b.

DAS, R. et al. Impact of heat stress on health and performance of dairy animals: A review. **Veterinary World**, v. 9, n. 3, p. 260–268, 2016.

DAVIS, S. R. et al. Effects of thyroxine and growth hormone treatment of dairy cows on milk yield, cardiac output and mammary blood flow. **Journal of Animal Science**, v. 66, n. 1, p. 70–79, 1988.

DE LA TORRE-SANTOS, S. et al. The mode of grass supply to dairy cows impacts on fatty acid and antioxidant profile of milk. **Foods**, v. 9, n. 9, p. 1–13, 2020.

DE MORAIS, J. P. G. et al. Lactation performance of Holstein cows treated with 2 formulations of recombinant bovine somatotropin in a large commercial dairy herd in Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 7, p. 5945–5956, 2017.

DE VRIES, M. F. W. Estimating forage intake and quality in grazing cattle: A reconsideration of the hand-plucking method. **Journal of Range Management**, v. 48, n. 4, p. 370–375, 1995.

DELAGARDE, R. et al. Caractéristiques de la prairie avant et après un pâturage; quels indicateurs de l'ingestion chez la vache laitière? **Rencontres Recherches Ruminants**, v. 8, n. 1, p. 209–212, 2001.

DELAGARDE, R.; PEYRAUD, J.-L.; DELABY, L. Influence of carbohydrate or protein supplementation on intake, behaviour and digestion in dairy cow. **Annales de Zootechnie (France)**, v. 48, p. 81–96, 1999.

DINEEN, M. et al. The effect of concentrate supplement type on milk production, nutrient intake, and total-tract nutrient digestion in mid-lactation, spring-calving dairy cows grazing perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) pasture. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 11, p. 11593–11608, 2021.

DOEPEL, L.; LAPIERRE, H. Changes in production and mammary metabolism of dairy cows in response to essential and nonessential amino acid infusions. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 7, p. 3264–3274, 2010.

EPPARD, P. J.; BAUMAN, D. E.; MCCUTCHEON, S. N. Effect of Dose of Bovine Growth Hormone on Lactation of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 68, n. 5, p. 1109–1115, 1985.

ETHERTON, T. D.; BAUMAN, D. E. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. **Physiological Reviews**, v. 78, n. 3, p. 745–761, 1998.

FAESC. **Estiagem se agrava em Santa Catarina**. Disponível em: <<http://www2.faesc.com.br/Noticias/Detalhe/16638>>.

FESSEHA, H.; ALIYE, S.; TEMESGEN, K. Recombinant Bovine Somatotropin and its Role in Dairy Production: A Review. **Theriogenology Insight: An International Journal of Reproduction in all Animals**, v. 9, n. 3, p. 1–10, 2019.

FLYNN, N. E.; SHAW, M. H.; BECKER, J. T. Amino Acids in Health and Endocrine Function. In: WU, G. (Ed.). **Amino Acids in Nutrition and Health: Amino acids in systems function and health**. Cham: Springer International Publishing, 2020. p. 97–109.

FRANÇA, M. **PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE DE VACAS JERSEY EM PASTAGEM TROPICAL SUPLEMENTADAS COM PROTEÍNA DE BAIXA DEGRADABILIDADE RUMINAL**. . 67 . Dissertação (Mestrado em Ciência Animal – Área: Produção Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2017.

FULKERSON, W. J. et al. Nutritive value of forage species grown in the warm temperate climate of Australia for dairy cows: Grasses and legumes. **Livestock Science**, v. 107, n. 2–3, p. 253–264, abr. 2007.

GABBI, A. M. et al. Different levels of supplied energy for lactating cows affect physicochemical attributes of milk. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 27, n. 1, p. 11–17, 2018.

GALINDO, C. E. et al. Effect of amino acid or casein supply on whole-body, splanchnic, and mammary glucose kinetics in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 11, p. 5558–5568, 2011.

GHIMIRE, S. C. et al. Somatotropine Bovine. In: **Toxicological Evaluation of Certain Veterinary Drug Residues in Food**. Geneva: WHO; 2014. p. 105–156.

GOBIKRUSHANTH, M. et al. The relationship between serum insulin-like growth factor-1 (IGF-1) concentration and reproductive performance, and genome-wide associations for serum IGF-1 in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 10, p. 9154–9167, 2018.

GONZÁLEZ, F. H. D.; DA SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 3. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2017.

GONZALEZ, F. H. D.; ROCHA, J. A. . DA. Metabolic profile variations and reproduction performance in holstein cows of different milk yields in southern Brazil. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v. 26, n. 1, p. 52–64, 1998.

GRANT, R. **Miner Institute: R.I.P. rbST.** Disponível em: <<https://www.dairyherd.com/article/miner-institute-rip-rbst>>. Acesso em: 19 jul. 2018.

GÜLAY, M.; PO, H. A. T. Use of bovine somatotropin in management of transition. v. 29, p. 571–580, 2005.

HALL, M. B. **What You Feed vs . What You Get : Feed Efficiency as an Evaluation Tool.** 14th Florida Ruminant Nutrition Symposium. **Anais...**2003.

HANSEN, L.; FERRÃO, M. F. Identification of Possible Milk Adulteration Using Physicochemical Data and Multivariate Analysis. **Food Analytical Methods**, v. 11, n. 7, p. 1994–2003, 1 jul. 2018.

HIGGS, R. J. et al. The effect of starch-, fiber-, or sugar-based supplements on nitrogen utilization in grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 6, p. 3857–3866, jun. 2013.

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* Elsevier Inc., , 1 mar. 2015.

HONGERHOLT, D. D.; MULLER, L. D. Supplementation of Rumen-Undegradable Protein to the Diets of Early Lactation Holstein Cows on Grass Pasture. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 8, p. 2204–2214, 1998.

HUHTANEN, P.; HRISTOV, A. N. A meta-analysis of the effects of dietary protein concentration and degradability on milk protein yield and milk n efficiency in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 7, p. 3222–3232, 2009.

HUTJENS, M. F. **Revisiting Feed Efficiency and Its Economic Impact.**

HUTJENS, M. F. **Feeding Guide**. 3. ed. Fort Atkinson: Hoard's Dairyman, 2008.

HUTJENS, M. F. **Feeding guide**. 4th. ed. Fort Atkinson: W.D. Hoard & Sons, 2018.

HYNES, D. N. et al. Effects of crude protein level in concentrate supplements on animal performance and nitrogen utilization of lactating dairy cows fed fresh-cut perennial grass. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 10, p. 8111–8120, 1 out. 2016.

IPHARRAGUERRE, I. R.; CLARK, J. H. Impacts of the source and amount of crude protein on the intestinal supply of nitrogen fractions and performance of dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 88 Suppl 1, n. July 2004, p. E22–E37, 2005.

IPHARRAGUERRE, I. R.; CLARK, J. H.; FREEMAN, D. E. Rumen fermentation and intestinal supply of nutrients in dairy cows fed rumen-protected soy products. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 8, p. 2879–2892, 2005.

ISHLER, V.; HEINRICHS, A.; VARGA, G. From feed to milk: understanding rumen function. 1996.

JACOBS, J. L. Challenges in ration formulation in pasture-based milk production systems. **Animal Production Science**, v. 54, n. 9, p. 1130–1140, 2014.

KALSCHEUR, K. F. et al. Effects of dietary crude protein concentration and degradability on milk production responses of early, mid, and late lactation dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 82, n. 3, p. 545–554, 1999.

KALSCHEUR, K. F. et al. Milk production of dairy cows fed differing concentrations of rumen-degraded protein. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 1, p. 249–259, 2006.

KELLAWAY, R.; HARRINGTON, T. **Feeding concentrates : supplements for dairy cows**. [s.l.] Landlinks Press, 2004.

KEYSERLINGK, M. A. G.; WEARY, D. M. Review: Feeding behaviour of dairy cattle: Meaures and applications. **Canadian Journal of Animal Science**, v. June, p. 303–309, 2010.

KLEIN, B. G. **Cunningham Tratado de Fisiologia Veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

KNOB, D. A. (Avaliação da eficiência alimentar, parâmetros bioquímicos e sanidade da glândula mamária de vacas mestiças Holandês x Simmental em relação as vacas Holandês durante a lactação e período de transição). Tese (Doutorado em Ciência Animal – Área: Produção Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 152 p., 2020.

KOLVER, E. S. Nutritional limitations to increased production on pasture-based systems. **The Proceedings of the Nutrition Society**, v. 62, n. 2, p. 291–300, 2003a.

KOLVER, E. S. Nutritional limitations to increased production on pasture-based systems. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 62, n. 2, p. 291–300, maio 2003b.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos Ruminantes**. 3. ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2011.

LAPIERRE, H. et al. **Protein supply , glucose kinetics and milk yield in dairy cows**. (Wan, Ed.)4. International Symposium on Energy and Protein Metabolism and Nutrition (ISEP). **Anais...**Parma: 2010a.

LAPIERRE, H. et al. **Protein supply, glucose kinetics and milk yield in dairy cows**. 4. International Symposium on Energy and Protein Metabolism and Nutrition (ISEP). **Anais...**: 4th International Symposium on Energy and Protein Metabolism and Nutrition (ISEP).Parme, Italy: Wageningen Academic Publishers, out. 2010b. Disponível em: <<https://hal.inrae.fr/hal-02758216>>

LAPIERRE, H. et al. Triennial lactation symposium: Mammary metabolism of amino acids in dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 5, p. 1708–1721, 2012.

LEBLANC, S. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. **The Journal of reproduction and development**, v. 56 Suppl, p. S29-35, jan. 2010.

LINDERKAMP, O. et al. The Effect of Growth Hormone Deficiency and of Growth Hormone Substitution on Blood Volume. **Pediatric Research**, v. 11, p. 885–889, 1977.

MACHADO, S. C. et al. Concentrate: Forage ratio in the diet of dairy cows does not alter milk physical attributes. **Tropical Animal Health and Production**, v. 46, n. 5, p. 855–859, 2014.

MALACCO, V. M. R. et al. Effects of partial replacement of solvent-extracted soybean meal by amino resin-treated soybean meal in the concentrate supplement of high producing grazing dairy cows. **Livestock Science**, v. 254, n. October, 2021.

MALLESON, E. R. et al. **Fishmeal supplementation to high-producing Jersey cows grazing kikuyu pastureTropical Grasslands**. [s.l: s.n.].

MARETT, L. C. et al. Plasma glucose and nonesterified fatty acids response to epinephrine challenges in dairy cows during a 670-d lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 4, p. 3501–3513, 2018.

MARTIN, B. et al. Effects of grass feeding on milk, cheese and meat sensory properties. In: **Molina Alcaide E., Ben Salem H., Biala K., Morand-Fehr P. (Eds). Sustainable grazing, nutritional utilization and quality of sheep and goat products**. Zaragoza: CIHEAM, 2005. p. 213-223, v. 223, n. 67, p. 213–223, 2005.

MCFADDEN, J. W. et al. Symposium review: One-carbon metabolism and methyl donor nutrition in the dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 6, p. 5668–5683, 2020.

MEZZALIRA, J. C. et al. Behavioural mechanisms of intake rate by heifers grazing swards of contrasting structures. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 153, p. 1–9, 2014.

MIGUEL, M. F. et al. Pasture intake and milk production of dairy cows grazing annual ryegrass with or without corn silage supplementation. **Animal Production Science**, v. 54, n. 10, p. 1810, 2014.

MILLER, H. I. Don't Cry Over rBST Milk. **The New York Times**, p. A29, 29 jun. 2007.

MOLENTO, C. F. M. et al. Effects of insulin, recombinant bovine somatotropin, and their interaction on insulin-like growth factor-1 secretion and milk protein production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 4, p. 738–747, 2002.

NASEM. **Nutrient Requirements of Beef Cattle: Eighth Revised Edition**. 8. ed. Washington, D.C.: National Academies Press, 2016.

NASEM. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 8. ed. Washington, D.C.: National Academies Press, 2021.

NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle.** Washington, D.C.: National Academies Press, 2001.

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

**Physiological Genomics**, v. 48, n. 4, p. 231–256, 2016.

PEEL, C. J.; BAUMAN, D. E. Somatotropin and Lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 70, n. 2, p. 474–486, 1987.

PELIZZA, A. et al. Perfil metabólico de vacas Holandês e mestiças Holandês x Jersey no periparto. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, n. 3, p. 741–751, 2019.

PINTO, L. F. M. **DINÂMICA DO ACÚMULO DE MATÉRIA SECA EM PASTAGENS DE *Cynodon* spp. SUBMETIDAS A PASTEJO.** Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 124 p., 2000.

RHOADS, M. L. et al. Growth hormone receptor, insulin-like growth factor (IGF)-1, and IGF-binding protein-2 expression in the reproductive tissues of early post partum dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 5, p. 1802–1813, 2008.

ROCHE, J. R. et al. Neuroendocrine and physiological regulation of intake with particular reference to domesticated ruminant animals. **Nutrition Research Reviews**, v. 21, n. 2, p. 207–234, 2008.

SANTOS, F. A. P. et al. **NUTRITION, FEEDING, AND CALVES Effects of Rumen-Undegradable Protein on Dairy Cow Performance: A 12-Year Literature Review** 1J **Dairy Sci.** [s.l: s.n.].

SANTOS, F. A. P.; PEDROSO, A. M. Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. DE (Eds.). **Nutrição de ruminantes**. 1. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2011. p. 265–297.

SCHOR, A; GAGLIOSTRO, G. A. Undegradable protein supplementation to early-lactation dairy cows in grazing conditions. **Journal of dairy science**, v. 84, n. 7, p. 1597–1606, 2001.

SCHWAB, C. G.; BRODERICK, G. A. A 100-Year Review: Protein and amino acid nutrition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 10094–10112, 2017.

SEMMELMANN, C. E. N. et al. Suplementação energética ou energético-protéica para vacas leiteiras em pastagem de quicuio (*Pennisetum clandestinum*) no Planalto Sul de Santa Catarina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, n. 2, p. 127–131, 2008.

SHIBRU, D. Review on: Effect of using Recombinant Bovine Somatotropin (rbST) hormone on dairy cattle production. **Global Journal of Science Frontier Research**, v. 16, n. 7, p. 19–30, 2016.

ST-PIERRE, N. R. et al. Meta-analysis of the effects of sometribove zinc suspension on the production and health of lactating dairy cows. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 245, n. 5, p. 550–564, 2014a.

ST-PIERRE, N. R. et al. Meta-analysis of the effects of sometribove zinc suspension on the production and health of lactating dairy cows. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 245, n. 5, p. 550–564, set. 2014b.

STOBBS, T. H.; MINSON, D. J.; MCLEOD, M. N. The response of dairy cows grazing a nitrogen fertilized grass pasture to a supplement of protected casein. **The Journal of Agricultural Science**, v. 89, n. 01, p. 137, 27 ago. 1977.

THALER NETO, A. et al. **Pontos críticos da qualidade do leite**. (F. H. D. González et al., Eds.)IV Simpósio da Vaca Leiteira. **Anais...** Porto Alegre - RS: 2017.

THOMAS, H. **A benefit to cows, the land and profitability of the farm: Fresh grass for high-producing dairy cows - Progressive Dairy**. Disponível em: <<https://www.progressivedairy.com/topics/feed-nutrition/a-benefit-to-cows-the-land-and-profitability-of-the-farm-fresh-grass-for-high-producing-dairy-cows>>. Acesso em: 20 jul. 2022.

TYRRELL, H. F.; REID, J. T. Prediction of the Energy Value of Cow's Milk. **Journal of Dairy Science**, v. 48, n. 9, p. 1215–1223, 1965.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. [s.l.] Comstock Pub, 1994.

VAN VUUREN, A. M.; VAN DEN POL, A. Grazing systems and feed supplementation. In: **Fresh Herbage for Dairy Cattle: The Key to a Sustainable Food Chain**. [s.l.] Springer, 2006. p. 85–101.

VILELA, D. et al. Utilização de Soja Integral Tostada na Dieta de Vacas em Lactação, em Pastagem de Coastcross (*Cynodon dactylon*, L. Pers.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 5, p. 1243–1249, 2003.

WALLAU, M.; VENDRAMINI, J. Methods of Forage Moisture Testing. **Edis**, v. 2019, n. 3, p. 1–3, 2019.

WANG, P. et al. Effects of level of nutrient intake and age on mammalian target of rapamycin, insulin, and insulin-like growth factor-1 gene network expression in skeletal muscle of young Holstein calves. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 1, p. 383–391, jan. 2014.

WELD, K. A.; ARMENTANO, L. E. The effects of adding fat to diets of lactating dairy cows on total-tract neutral detergent fiber digestibility: A meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 3, p. 1766–1779, 2017.

WOLF, C. A. et al. Public and farmer perceptions of dairy cattle welfare in the United States. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 7, p. 5892–5903, jul. 2016a.

WOLF, C. A. et al. Public and farmer perceptions of dairy cattle welfare in the United States. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 7, p. 5892–5903, 1 jul. 2016b.

WOLF, C. A.; TONSOR, G. T.; OLYNK, N. J. Understanding U.S. consumer demand for milk production attributes. **Journal of Agricultural and Resource Economics**, v. 36, n. 2, p. 326–342, 2011.

YODER, P. S. et al. Effects of jugular infused methionine, lysine, and histidine as a group or leucine and isoleucine as a group on production and metabolism in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 3, p. 2387–2404, 1 mar. 2020.