

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CAMPUS DE PALMEIRA DAS MISSÕES  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONEGÓCIOS**

Júlia Laize Bandeira Calgaro Lorini

**FONTES LIPÍDICAS PARA VACAS HOLANDÊS NO NOROESTE DO  
RIO GRANDE DO SUL DURANTE O VERÃO**

Palmeira das Missões, RS  
2022

**Júlia Laize Bandeira Calgaro Lorini**

**FONTES LIPÍDICAS PARA VACAS HOLANDÊS NO NOROESTE DO RIO  
GRANDE DO SUL DURANTE O VERÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronegócios, da Universidade Federal de Santa Maria, *Campus* de Palmeira das Missões (UFSM – PM), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Agronegócios**.

Orientadora: Prof. Dra. Ione Maria Pereira Haygert Velho

Palmeira das Missões, RS  
2022

Lorini, Júlia Laize Bandeira Calgaro  
FONTES LIPÍDICAS PARA VACAS HOLANDÊS NO NOROESTE DO  
RIO GRANDE DO SUL DURANTE O VERÃO / Júlia Laize Bandeira  
Calgaro Lorini.- 2022.  
78 p.; 30 cm

Orientadora: Ione Maria Pereira Haygert Velho  
Coorientador: João Pedro Velho  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Campus de Palmeira das Missões, Programa de Pós  
Graduação em Agronegócios, RS, 2022

1. Comportamento 2. Produção de leite 3. Composição do  
leite 4. Ácidos graxos I. Velho, Ione Maria Pereira  
Haygert II. Velho, João Pedro III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, JÚLIA LAIZE BANDEIRA CALGARO LORINI, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

**Júlia Laize Bandeira Calgaro Lorini**

**FONTES LIPÍDICAS PARA VACAS HOLANDÊS NO NOROESTE DO RIO  
GRANDE DO SUL DURANTE O VERÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronegócios, da Universidade Federal de Santa Maria, *Campus* de Palmeira das Missões (UFSM – PM), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Agronegócios**.

**Aprovado em 25 de julho de 2022:**

---

**Ione Maria Pereira Haygert-Velho, Dra. (UFSM)**  
**(Presidente/ Orientadora)**

---

**João Pedro Velho, Dr. (UFSM)**  
**(Coorientador)**

---

**Dileta Regina Moro Alessio, Dra. (UNIASSELVI)**

---

**Antônio Augusto Cortiana Tambara (IFF)**

**Palmeira das Missões, RS**  
**2022**

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho à minha família. Meus pais Delmar e Ligia, minha irmã Alexandra e meu esposo Diogo. Vocês são a minha motivação e me fazem sempre seguir em frente.

## **AGRADECIMENTOS**

*Agradeço primeiramente a Deus pela vida, família e amigos;*

*Aos meus pais Delmar e Ligia, pelo amor, apoio, incentivo, estando ao meu lado e acreditando em mim;*

*A minha irmã Alexandra, pela ajuda, companheirismo e conselhos;*

*Ao meu esposo Diogo, pela compreensão em todos os momentos, incentivo, paciência, carinho e amor;*

*Aos meus orientadores Ione Maria Pereira Haygert Velho e João Pedro Velho, pela amizade, confiança, dedicação, paciência, disponibilidade de tempo, comprometimento e por todos os ensinamentos desde o início da minha caminhada acadêmica;*

*À Escola Estadual Técnica Celeste Gobbato, propriedade que abriu as portas para a realização do estudo;*

*Aos colegas do Grupo de Pesquisa INOVAZOOT, que mesmo de longe sempre me ajudaram e apoiaram;*

*A Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade de realização do Mestrado em Agronegócios;*

*Enfim, a todos que de uma forma ou outra me ajudaram e contribuíram, muito obrigada!*

## RESUMO

### FONTES LIPÍDICAS PARA VACAS HOLANDÊS NO NOROESTE DO RIO GRANDE DO SUL DURANTE O VERÃO

AUTORA: Júlia Laize Bandeira Calgaro Lorini  
ORIENTADORA: Ione Maria Pereira Haygert Velho  
CO-ORIENTADOR: João Pedro Velho

Objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão de diferentes fontes lipídicas na dieta de vacas da raça Holandês em sistema semi-confinado sobre o estresse pelo calor, produção, composição e perfil dos ácidos graxos do leite e o comportamento animal. Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandês, distribuídas em dois quadrados latino 4x4 com vacas multíparas e um quadrado latino 4x4 de vacas primíparas. Os tratamentos utilizados foram de Controle, Gordura Protegida, Linhaça e Mistura (Gordura protegida + Linhaça). No 11° e 12° dias de cada período experimental foram realizadas as coletas de leite e amostras de leite quanto ao perfil de ácidos graxos que foram congeladas a -20 °C para posteriormente serem analisadas. No 13° dia de cada período foi realizada a avaliação do comportamento animal durante 24 horas. Foram realizadas análises de variância e quando necessário utilizou-se o teste de comparação de médias Tukey A atividade de pastejo em ambos os tratamentos teve maior pico após a ordenha da manhã entre às 8 e às 10h. A produção de leite, e a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura não apresentaram diferença entre os tratamentos. A produção de lactose em porcentagem e em kg/vaca/dia não diferiu entre os tratamentos. Quanto à produção de sólidos em quilograma e em percentual, os tratamentos com gordura protegida e mistura foram inferiores ao tratamento com linhaça e todos os três não diferiram do tratamento controle. Houve maior produção de ácido graxo esteárico (C18:0) para os tratamentos Linhaça e Mistura, os quais não diferiram do tratamento Gordura, sendo que este último não diferiu do tratamento Controle. As fontes lipídicas não alteraram consideravelmente a produção de leite, mas foram significativas na alteração do perfil dos ácidos graxos.

**Palavras-chave:** comportamento, produção de leite, composição do leite, ácidos graxos.

## ABSTRACT

### LIPID SOURCES FOR HOLSTEIN COWS IN THE NORTHWEST OF RIO GRANDE DO SUL DURING THE SUMMER

AUTHOR: Júlia Laize Bandeira Calgaro Lorini  
ADVISOR: Ione Maria Pereira Haygert Velho  
CO-ADVISER: João Pedro Velho

The objective was to evaluate the effects of the inclusion of different lipid sources in the diet of Holstein cows in a semi-confined system on heat stress, production, composition and profile of fatty acids in milk and animal behavior. Twelve Holstein cows were used, distributed in two 4x4 Latin squares with multiparous cows and a 4x4 Latin square with primiparous cows. The treatments used were Control, Protected Fat, Flaxseed and Mixture (Protected Fat + Flaxseed). On the 11th and 12th days of each experimental period, milk samples and milk samples were collected to evaluate the fatty acid profile, which were frozen at -20 °C for further analysis. On the 13th day of each period, the animal behavior was evaluated for 24 hours. Analyzes of variance were performed and, when necessary, the Tukey average comparison test was used. Grazing activity in both treatments had a higher peak after milking in the morning between 8 and 10 am. Milk production and milk production corrected for 3.5% fat showed no difference between treatments. Lactose production in percentage and in kg/cow/day did not differ between treatments. As for the production of solids in kilograms and in percentage, the treatments with protected fat and mixture were inferior to the treatment with flaxseed and all three did not differ from the control treatment. There was a higher production of stearic fatty acid (C18:0) for the flaxseed and mixture treatments, which did not differ from the Fat treatment, and the latter did not differ from the Control treatment. Lipid sources did not significantly alter milk production, but were significant in altering the fatty acid profile.

**Keywords:** behavior, milk production, milk composition, fatty acids.



## **LISTA DE FIGURAS**

### **APRESENTAÇÃO**

- Figura 1 – Alterações no comportamento dos animais em função do estresse pelo calor .....20
- Figura 2 – Esquema com os elos da Cadeia Produtiva do Leite .....22

### **ARTIGO**

- Figura 1. Valores médios de umidade relativa do ar (URA) e Índice de Temperatura e Umidade (ITU) referente aos dias de coleta de dados entre janeiro e março de 2011 .30
- Figura 2. Valores médios de temperatura do ar referente aos dias de coleta de dados entre janeiro a março de 2011 .....31

## LISTA DE TABELAS

### APRESENTAÇÃO

Tabela 1 - Produção de leite nos estados brasileiros no ano de 2019.....	13
--	----

### ARTIGO

Tabela 1. Composição do concentrado utilizado para todos os tratamentos .....	27
Tabela 2. Comportamento das vacas da raça Holandês suplementadas com diferentes fontes lipídicas.....	33
Tabela 3. Valores médios dos parâmetros fisiológicos de vacas da raça Holandês submetidas a dietas com diferentes fontes lipídicas .....	35
Tabela 4. Valores médios da produção, composição do leite, e contagem de células somáticas de vacas da raça Holandês recebendo diferentes fontes lipídicas.....	36
Tabela 5. Perfil de ácidos graxos do leite de vacas da raça Holandês submetidas a diferentes fontes lipídicas durante o verão. ....	39

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	10
2.	REFERENCIAL TEÓRICO .....	12
2.1	PANORAMA DA PRODUÇÃO DE LEITE.....	12
2.2	ESTRESSE PELO CALOR, PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE, COMPORTAMENTO E REPRODUÇÃO DE VACAS EM LACTAÇÃO .....	13
2.3	SUPLEMENTAÇÃO LIPÍDICA .....	16
2.4	COMPOSIÇÃO DO LEITE .....	18
2.5	CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS).....	19
2.6	COMPORTAMENTO ANIMAL.....	19
2.7	ALIMENTO FUNCIONAL .....	21
2.8	BONIFICAÇÃO NA PRODUÇÃO DE LEITE.....	22
2.9	INSTRUÇÕES NORMATIVAS.....	23
3.	ARTIGO: ALTERNATIVAS ALIMENTARES DE REBANHO HOLANDÊS NO NOROESTE DO RIO GRANDE DO SUL DURANTE O VERÃO .....	24
4.	CONSIDERAÇÕES E SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS.....	47
	REFERÊNCIAS.....	48
	ANEXO A – NORMAS PARA SUBMISSÃO NO JOURNAL OF DAIRY SCIENCE.....	53

## 1. INTRODUÇÃO

Um dos mais importantes ramos do agronegócio é a Cadeia Produtiva do Leite, a qual é considerada como uma das principais, podendo ser do ponto de vista econômico, já que à mesma tem sua representação em constante crescimento diante as atividades do agronegócio, e também da perspectiva social, sendo uma atividade essencial para geração de emprego e renda, em especial ao produtor rural, evitando em alguns casos o êxodo rural.

O setor de lácteos a nível nacional sofre interferência pelos diferentes níveis tecnológicos adotados em cada propriedade, acometendo grande heterogeneidade da produção nacional. Os sistemas de produção utilizam equipamentos modernos com programas de rotina, e outros utilizando manejo tradicional com sistemas mais restritos, este de menor eficiência, principalmente no uso da terra (RAGAZZI et al., 2021).

No ano 2019, no Brasil a produção de leite esteve presente em 98% dos municípios, totalizando 1,170 milhão de estabelecimentos agropecuários, com produção acima de 34 bilhões de litros. (EMBRAPA, 2021). A Região Sul do Brasil é considerada uma das maiores produtoras de leite, parte das propriedades tem como o principal sistema de produção a agricultura familiar, isto em função da colonização europeia que ocorreu na região (COUTO, 2003). Boa parte disto acontece pelos imigrantes sofrerem influência do seu país de origem, trazendo os modos de produção lá utilizados. Pode-se observar também que nesta região ocorre maior difusão do uso de tecnologias, da modernização agrícola e das estruturas de organização, como por exemplo, o cooperativismo e associativismo (De OLIVEIRA GOBBI e PESSOA, 2009).

Vacas leiteiras, principalmente de alta produção, necessitam de atenção, sobretudo no período pós-parto. Nesta fase, passarão por demanda maior de nutrientes, e se esta não for atendida, poderá ocorrer o que chamamos de balanço energético negativo, momento este onde a exigência nutricional energética é maior, em função da produção de leite.

A principal limitação da produção de leite é o consumo de energia, sendo definido pela concentração energética da dieta e por sua taxa de ingestão. Visando suprir a carência relacionada a necessidade energética das vacas em lactação, a inclusão de lipídios na dieta destes animais vem sendo utilizada para incrementar a densidade energética da alimentação, buscando inibir os efeitos prejudiciais de quantidades elevadas de concentrados com alta inclusão de amido sobre o ambiente ruminal (DOREAU & CHILLIARD, 1997).

Objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão de diferentes fontes lipídicas na dieta de vacas da raça Holandês semi-confinadas durante o verão sobre produção, composição e perfil dos ácidos graxos do leite e o comportamento animal.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 PANORAMA DA PRODUÇÃO DE LEITE**

Nos últimos 50 anos, a atividade leiteira no Brasil atingiu uma dimensão indiscutível. Os aumentos foram de 673%, 245,6% e 240% para produção, produtividade e consumo de lácteos, respectivamente, consequência de desempenho social e econômico. O segmento na atividade leiteira no Brasil é desafiador, visto que a rentabilidade deve ser maior se comparado com as demais atividades para manter o produtor no campo. A justificativa está relacionada com o próprio mercado, pois apesar do preço real do leite pago ao produtor ser menor (VIANA et al., 2010), a produtividade teve acréscimo mesmo com menos da metade dos produtores (VILELA et al., 2017).

O preço pago pelo consumidor nos alimentos experimenta a ação de várias situações nas diversas fases das cadeias agroalimentares, especialmente na produção agrícola, indústria e varejo (BACCARIN & OLIVEIRA, 2021). A atividade leiteira vem se tornando cada vez mais especializada, os produtores precisam produzir um produto de qualidade com custo baixo e garantir sua permanência na atividade. Rações e concentrados são responsáveis por aumentar os custos que podem variar muito dependendo da situação de mercado e taxa cambial, já que os macronutrientes para a produção de rações são cotados no mercado internacional, como soja, milho e trigo (ASSIS et al. 2016).

Em 2019, segundo o Anuário Leite da EMBRAPA (2021), a Mesorregião Noroeste Rio-Grandense encontra-se em primeiro lugar no país, com produção de 2.868.752 bilhões de litros de leite produzidos no ano, com um total de 8,23% do total. Ocupando a terceira posição está o Oeste Catarinense que produz 2.351.847 bilhões de litros/ano (6,75% do total). A Mesorregião do Sudoeste do Paraná ocupa o sétimo lugar, com 1.023.207 bilhões de litros por ano, com 2,94% do total, sendo estas as mesorregiões mais produtoras de cada estado estudado.

Segundo o Censo Agropecuário de 2017, os estados que lideram a produção de leite são: Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Paraná, Santa Catarina e Goiás, sendo responsáveis por 29%, 13%, 11%, 9% e 9% da produção nacional, respectivamente. Os dados são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Produção de leite (mil litros) nos estados brasileiros no ano de 2019

ESTADO	PRODUÇÃO	PARTICIPAÇÃO PROD. BRASIL	PARTICIPAÇÃO ACUMULADA
Minas Gerais	9.447.549	27,11 %	27,11 %
Paraná	4.339.194	12,45 %	39,57 %
Rio Grande do Sul	4.270.799	12,26 %	51,82 %
Goiás	3.180.505	9,13 %	60,95 %
Santa Catarina	3.040.186	8,72 %	69,67 %
São Paulo	1.651.808	4,74 %	74,42 %
Rondônia	1.128.596	3,24 %	77,65 %
Bahia	1.068.451	3,07 %	80,72 %
Pernambuco	1.064.748	3,06 %	83,78 %
Ceará	797.368	2,29 %	86,06 %
Mato Grosso	657.526	1,89 %	87,95 %
Pará	605.199	1,74 %	89,69 %
Alagoas	603.808	1,73 %	91,42 %
Rio de Janeiro	431.966	1,24 %	92,66 %
Espírito Santo	415.563	1,19 %	93,85 %
Tocantins	399.348	1,15 %	95,00 %
Sergipe	347.645	1,00 %	96,00 %
Maranhão	342.270	0,98 %	96,98 %
Rio Grande do Norte	323.854	0,93 %	97,91 %
Mato Grosso do Sul	282.755	0,81 %	98,72 %
Paraíba	241.010	0,69 %	99,41 %
Piauí	70.789	0,20 %	99,62 %
Amazonas	43.846	0,13 %	99,74 %
Acre	42.741	0,12 %	99,86 %
Distrito Federal	29.350	0,08 %	99,95 %
Roraima	13.470	0,04 %	99,99 %
Amapá	4.671	0,01 %	100,00 %
<b>Total</b>	<b>34.845.015</b>	<b>100,00 %</b>	<b>100,00 %</b>

Fonte: Anuário Leite Embrapa 2021.

## 2.2 ESTRESSE PELO CALOR, PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE, COMORTAMENTO E REPRODUÇÃO DE VACAS EM LACTAÇÃO

Segundo o Censo Agropecuário de 2017, as propriedades leiteiras que produzem até 500 litros de leite por dia (aproximadamente 1,1 milhões) representam cerca de 98% dos estabelecimentos, o que representa 70% do leite brasileiro, ao mesmo tempo que 2% dos produtores (aproximadamente 0,2 milhões) foram responsáveis pelo restante, ou seja, 30 % do leite do Brasil, que há um grande e forte investimento dos produtores maiores, o que é transformado em acréscimo de produção e produtividade, sendo isto um dos fatores responsáveis pela menor dependência sazonal na produção. Uma das principais causas da sazonalidade na produção de leite é o estresse térmico (SCHÜLLER et al., 2016), em virtude de boa parte dos sistemas de criação serem tipo semi-confinado. A região Sul do Brasil é de

clima subtropical úmido, fator que potencializa o estresse nos animais, podendo ocorrer no mesmo dia, temperaturas extremas e amenas.

A composição do leite interfere na sua qualidade nutricional. A composição, como também a quantidade de leite produzida, pode sofrer interferência de vários fatores, como o número de lactações, idade dos animais, raça do animal, estágio de lactação, época do ano e alimentação (NORO et al., 2006). A maior produção de leite no estado do Rio Grande do Sul ocorre, geralmente, nas estações do inverno e primavera (SOUZA et al. 2018, SICHESKI et al. 2020), onde há maior oferta e disponibilidade de forragem com qualidade.

O estresse pelo calor gera perdas produtivas para o sistema de produção de leite (CARABAÑO et al, 2016), o que se deve buscar são formas de reduzir esta ocorrência. Em muitos casos, os produtores utilizam ventilação, aspersão e nebulização, buscando proporcionar aos animais condições mais amenas, para que não ocorram perdas acentuadas.

Em estudo conduzido por Da Silva e demais autores (2002), a produção de leite aumenta em média 7,28% com condições ambientais favoráveis, como por exemplo, a climatização, neste caso específico a nebulização antes da ordenha. Além da produção, a frequência respiratória também sofre alteração, experimentando redução com melhores condições de bem-estar. Neste caso houve redução de 2,53° C na temperatura do ar.

Há impacto negativo das altas temperaturas ambientais quando se trata do desempenho de vacas leiteiras de transição, principalmente em propriedades de pequeno porte, onde os produtores proporcionam somente cobertura parcial a fim de amenizar o estresse pelo calor. Nestes casos, a produção de leite é baixa, reduzindo a sustentabilidade da propriedade em condições de altas temperaturas (KEKANA et al, 2018).

Um dos métodos utilizados para a identificação do estresse pelo calor em vacas de leite é o Índice de Temperatura e Umidade (ITU), onde é possível determinar períodos críticos para os animais de produção.



## Índice de Temperatura e Umidade

Valores de Índice de Temperatura-Umidade

Umidade Relativa do Ar (%)

	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
20	63	63	63	64	64	64	64	65	65	65	66	66	66	66	67	67	67	67	68	68
22	64	65	65	66	66	66	67	67	67	68	68	69	69	69	70	70	70	71	71	72
24	66	67	67	68	68	69	69	70	70	70	71	71	72	72	73	73	74	74	75	75
26	68	69	69	70	70	71	71	72	73	73	74	74	75	75	76	77	77	78	78	79
28	70	70	71	72	72	73	74	74	75	76	76	77	78	78	79	80	80	81	82	82
30	71	72	73	74	74	75	76	77	78	78	79	80	81	81	82	83	84	84	85	86
32	73	74	75	76	77	77	78	79	80	81	82	83	84	84	85	86	87	88	89	90
34	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93
36	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	93	94	95	96	97
38	78	79	81	82	83	84	85	86	88	89	90	91	92	93	95	96	97	98	99	100
40	80	81	82	84	85	86	88	89	90	91	93	94	95	96	98	99	100	101	103	104

Normal:  $\leq 74$  Alerta: 75-78 Perigo: 79-83 Emergência:  $\geq 84$

Fonte: Adaptado de Nienaber et al, (2004)

Prejuízos produtivos, reprodutivos e falta de bem estar podem estar relacionadas aos estresse térmicos sofrido pelos animais. Para que não ocorram perdas econômicas relacionadas a isso, é importante realizar a prevenção no sistema de produção de leite. Algumas formas de diminuir o estresse pelo calor têm influência direta na produção, reprodução, nutrição e bem estar das vacas. O método mais utilizado hoje é a sombra, acrescentado com ventilação e asperção de água outra forma de buscar amenizar é alimentar os animais nas horas mais frescas do dia (RICCI et al, 2013).

Fatores ligados ao manejo e ao estado nutricional podem estar relacionados diretamente com a composição do leite de forma rápida e econômica, e as mudanças genéticas têm influência de modo lento. O estresse térmico por calor também afeta os animais em qualquer nível de produção, sendo mais suscetível à raça Holandês, onde a temperatura ideal seria entre 5 à 23°C (NRC, 2001). O Brasil é um país tropical e tem limitações relacionadas a produção de leite, diminuindo o consumo de alimento e conseqüentemente de fibra, principal estimulador da ruminação e estando diretamente relacionada a produção (GONZÁLEZ et al., 2004).

Para tentar amenizar o estresse térmico, as vacas leiteiras possuem algumas técnicas fisiológicas, estas envolvem aumento na taxa de respiração, respiração ofegante e sudorese, além da redução da produção de leite e do desempenho reprodutivo (POLSKY & VON KEYSERLINGK, 2017).

## 2.3 SUPLEMENTAÇÃO LIPÍDICA

A suplementação lipídica é utilizada em geral em dietas formuladas de alta energia para vacas leiteiras de alta produção. A maior parte dos lipídios adicionados na alimentação animal é de origem de subprodutos de gordura animal, os quais possuem maior quantidade de ácidos graxos saturados do que os de origem vegetal (CHOUINARD et al, 2001).

Em estudo avaliando a inclusão de gordura protegida de óleo de palma na dieta de ovelhas em lactação, pode-se observar aumento no ganho de peso e da condição corporal. Ademais conforme o fornecimento de gordura aumentou, se elevaram também níveis de gordura e produção de leite. Teores de lactose e proteína sofreram redução com esta inclusão (BIANCHI et al., 2018).

Experimento realizado por Zatta et al. (2017) utilizando a inclusão de óleo de palma na alimentação de vacas de leite, mostrou resultados positivos quanto ao escore de condição corporal das vacas, porém não teve resultado na composição e produção do leite. Estudo conduzido por Chilliard e demais autores (2009), encontraram resultados onde a composição de ácidos graxos do leite é alterada com a inclusão de linhaça na dieta. A inclusão foi de 5% de lipídios de linhaça em uma dieta a base de silagem e milho.

Avaliando a utilização de gordura protegida de óleo de soja e grãos de linhaça, Cavalieri et al. (2005) encontraram diferença na ingestão de matéria seca, sendo que foi maior nos animais alimentados com linhaça, bem como nos níveis de gordura, proteína e sólidos totais. a inclusão de gordura protegida aumentou a produção de leite e a lactose.

A mitigação dos gases de efeito estufa é uma preocupação que vem sendo cada vez mais discutida, principalmente quando se fala em produção agropecuária. A inclusão de linhaça na dieta a base de silagem de milho de bovinos leiteiros tem apresentado efeitos positivos em relação a mitigação. A suplementação de óleo de linhaça a 2 ou 3% da matéria seca da dieta pode ser uma opção para isto (HASSANAT & BENCHAAAR, 2021).

Além disso, a suplementação lipídica, ao contrário dos carboidratos, não sofre fermentação a nível de rúmen e, portanto, não produz calor. Dessa forma podem ser utilizado em dieta de vacas como método na redução do estresse térmico, principalmente nos meses mais quentes do ano, no verão (BURIN, 2016).

A inclusão de gordura na dieta de vacas vem sendo estudada com o intuito de melhorar o perfil dos ácidos graxos do leite e elevar os níveis de ácidos graxos “bons”, podendo ser benéfico tanto para o produtor de leite com o valor agregado no produto, quanto

para o consumidor, sendo opção de alimento saudável (Palmquist et al., 2006). Essa estratégia bem como sua linha de pesquisa tem progredido com o passar dos anos, desta forma, Palmquist and Jenkins (2017) mostram que esta evolução passou por vários estágios, sendo hoje incluída na totalidade dos softwares de formulação. Para animais com produção de leite acima de 15.000 kg/ano, a suplementação com gordura está cada vez mais necessária, podendo esta ser através de sementes inteiras.

A alimentação com fontes lipídicas com alto teor de C18:2 ou C18:3, como sementes ou óleo, elevam a taxa de ácido linoleico conjugado (CLA), sendo que para que isso ocorra, o óleo deve estar disponível para os microrganismos do rúmen para biohidrogenação. A opção econômica com maior viabilidade é a de soja tratada termicamente. Outra forma é a inclusão de óleo de soja ou linhaça. A inclusão de óleo livre reduz o teor de gordura do leite, porém eleva o teor de CLA do leite de vacas alimentadas com óleo. O óleo de soja (2% da MS da dieta) elevou em 237% o teor de CLA do leite se comparado ao controle. (Dhiman et al., 2000).

Meignan et al. (2017) por meio de estudo de meta-análise, constataram que houve dependência da quantidade ofertada de linhaça para a produção de ácidos graxos do leite. Entretanto não foram encontrados efeitos de dose sobre o consumo de matéria seca e produção de leite. Já Leduc et al. (2017), também usando meta-análise, encontraram resultados onde a suplementação de linhaça reduziu o consumo de matéria seca e o rendimento do leite, como a gordura, proteína e lactose.

A suplementação dietética com óleo de linhaça elevou a concentração de C18:3 e diminuiu a relação ômega-6/ômega-3 do leite. Demonstrando que a adição de óleos vegetais na dieta de ruminantes transforma o perfil de ácidos graxos do leite, se tornando assim, nutricionalmente mais saudável para a dieta humana (Oliveira et al., 2021).

A inclusão de 5% de óleo de linhaça em dieta a base de silagem de milho modifica a composição de ácidos graxos do leite das vacas alimentadas com esta dieta. A produção de gordura diminui, porém, ao mesmo tempo há redução da emissão de gás metano (CH<sub>4</sub>), o que resulta em uma maior disponibilidade de óleo de linhaça no rúmen e altos níveis de ácidos graxos no leite (Chilliard et al., 2009).

Em estudo realizado por Bettero et al. (2017), as fontes de gordura protegida foram eficientes em relação à biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos. A inclusão de soja (óleo e grão integral cru) teve melhor resultado na digestão ruminal se comparado com a gordura protegida.

A suplementação de óleo de semente de seringueira e óleo de linhaça (4%), apresenta resultados positivos na digestibilidade dos nutrientes (matéria seca, fibra em detergente neutro e extratos etéreos) e resulta na modificação do padrão de fermentação ruminal ao aumentar a proporção de propionato. Além disso, as vacas que receberam o suplemento, demonstraram alteração na composição de ácidos graxos ruminais com ácido vacênico aprimorado, cis-9,trans-11 ácido linoleico conjugado e ácido linolênico (Pi et al., 2019).

## 2.4 COMPOSIÇÃO DO LEITE

Cardozo et.al. (2013) constataram que o leite e produtos lácteos de vacas suplementadas com óleo de linhaça possuem valor nutracêutico agregado, ou seja, o alimento produzido pode proporcionar melhora na saúde e bem estar de quem os consumir.

Para realizar a determinação de estado do rebanho leiteiro, recomenda-se levar em consideração a alimentação fornecida aos animais, a qual terá influência importante no seu desempenho produtivo. A avaliação da saúde de um animal também pode ser feita através da produção e composição do leite. Níveis de composição do leite como a gordura, proteína e uréia do leite podem ser utilizados para determinar a eficácia da proteína fornecida na alimentação (INAL et al., 2015).

Almeida (2013) e demais autores, demonstraram que é possível melhorar o condicionamento térmico de animais expostos a 30 minutos de climatização, antes da ordenha. Animais com este condicionamento mostraram maior frequência de visitação ao comedouro e bebedouro e tempo de ruminação, conseqüentemente maior produção de leite. A composição do leite não sofreu alterações.

O estresse térmico impacta fortemente nos indicadores clínicos e ocasiona redução significativa na produção de leite em vacas Holandesas. Além deste, o estresse térmico está associado a modificações na composição do leite, reduzindo concentrações de proteína do leite e lactose e aumento da contagem de células somáticas, mas sem interferência no teor de gordura do leite (GARCIA et al., 2015).

Stürmer et al. (2018), encontraram resultados onde há grande relação entre temperaturas ambientais, mínima, máxima e média diária (°C) e índice de temperatura e umidade (ITU) sobre a produção, a composição do leite e o preço pago ao produtor. Weber et al. (2020) mostram resultados onde a qualidade do leite é influenciada de forma negativa nos meses mais quentes, apresentando maior incidência de mastite no rebanho. Nas estações do

inverno e da primavera, a qualidade do leite esteve dentro dos padrões exigidos pela normativa vigente.

## **2.5 CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS)**

Estudo realizado por Coldebella e demais autores (2004) evidenciaram que o aumento de contagem de células somáticas está diretamente relacionado com perdas de produção de leite, independente do nível de produção das vacas.

Níveis superiores de Contagem de Células Somáticas (CCS) foram encontrados com maior frequência em animais em estágio final de lactação do que em vacas com idade inicial de parto, isso se dá pelo fato de maior exposição de agentes responsáveis da mastite e também casos de infecção estendidos (DAL PIZZOL et al., 2014).

Em estudo realizado em Minas Gerais, Cunha et al, 2008. verificaram diminuição na produção de leite a partir da terceira lactação e aumento nos níveis de gordura e proteína e na CCS. Conforme aumenta o número de lactações, a CCS apresenta-se maior. Informações semelhantes também foram encontradas em estudo realizado no Rio Grande do Sul, onde animais mais jovens em lactação, apresentaram menor teor de CCS e maiores índices de lactose (CALGARO et al, 2020).

## **2.6 COMPORTAMENTO ANIMAL**

Modificações de comportamento, fisiológicas, queda na produção e qualidade do leite, e conseqüentemente perdas econômicas são alguns dos reflexos ocasionados pelo estresse térmico na bovinocultura de leite. Estes efeitos podem ser amenizados com mais agilidade quando logo identificados, desta forma amenizando o prejuízo econômico (DALTRO et al, 2020).

Uma das formas de tentar amenizar o estresse pelo calor em sistemas de semi-confinamento é o sistema silvipastoril, o qual estabelece um método eficiente para criação de animais especializados na produção de leite, proporcionando um melhor espaço com ambiente térmico. Os animais procuram ambientes sombreados durante o verão e em climas quentes, isto mostra a necessidade do fornecimento de sombra, principalmente de árvores de espécie arbóreas com copas densas (LEME et al, 2005).

Períodos médios de frequência de visitação ao cocho, ócio, ruminação e procura pelo bebedouro não sofreram interferência de sombreamento na área de descanso dos animais. A

maior visitação ao cocho acontece em períodos pré e pós ordenha. A ruminação ocorre a maior parte no período da noite. O ócio ocorre com maior frequência no período de maior radiação solar. A maior procura por água acontece nas horas mais quentes do dia e os animais permanecem entre cinco e seis vezes mais na área coberta em relação a área sem proteção (DAMASCENO et al, 1999).

Em estudo realizado por Vilela (2013) e demais autores, experimentando vacas em sistema adiabático evaporativo, constataram que não houve diferença nos animais em termos fisiológicos, entretanto, melhor condição de conforto térmico foi observada através do comportamento dos animais, possibilitando que aos animais se alimentarem nas horas mais quentes do dia.

Quando o animal é exposto a condições de estresse pelo calor, podem ocorrer algumas mudanças em seu comportamento (Figura 1), aumentando o tempo de atividades noturna e momentos de ócios, pois o animal busca as horas mais amenas do dia para se alimentar. A temperatura corporal, consumo de água e a frequência respiratória também se elevam, buscando condições de dissipação de calor. A ingestão de alimento diminui, consequentemente a atividade de ruminação e a produção de leite também.

Figura 1 – Alterações no comportamento dos animais em função do estresse pelo calor



Autoria própria através do aplicativo Canva.

## 2.7 ALIMENTO FUNCIONAL

A linhaça é um alimento com alto teor de óleo (40%) (PETIT, 2010), possui características capazes de elevar a concentração de ácido linoléico conjugado no leite de vacas (FUKE & NORBERG, 2017), o que está relacionado com redução de incidência de doenças em humanos (DOREAU & FERLAY, 2015), além de reduzir a emissão de metano através dos ácidos graxos degradados no rúmen (MARTIN et. al., 2016).

A planta da linhaça pode ser aproveitada quase que em sua totalidade pela indústria. O caule é utilizado para a produção de linho, empregado na fabricação de roupas. A semente é utilizada para a extração do óleo, que serve na fabricação de resinas, tintas e para a indústria de alimentos (SOARES et al., 2009).

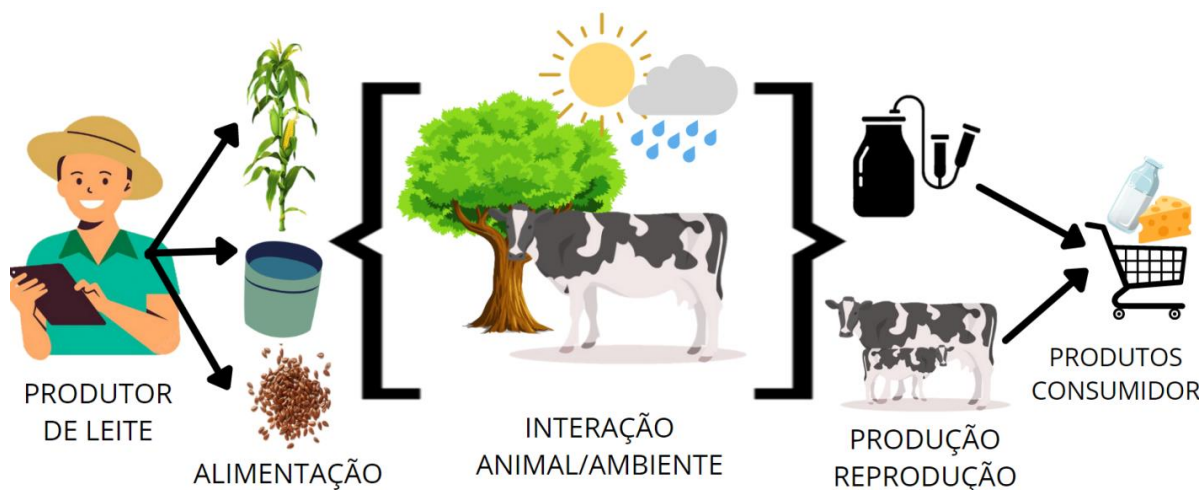
A utilização da linhaça ocorre tanto na alimentação humana quanto na alimentação animal. Em função de suas propriedades, podem-se acumular ganhos em todas as etapas de sua cadeia produtiva, desde os agricultores, que podem obter ganhos no cultivo passando pelos produtores que optarem por fornecer aos seus animais e que podem produzir alimentos com valores agregados, e conseqüentemente, até para os consumidores que terão a sua disposição alimentos benéficos a sua saúde.

Atualmente, em função do aumento do conhecimento relacionado às propriedades benéficas da linhaça, o consumo vem crescendo. Pois é classificada como alimento funcional, ou seja, além e funções básicas de nutrição, ocorre a produção de efeitos fisiológicos e metabólicos favoráveis à saúde (SOARES et al., 2009).

Nos últimos anos, a linhaça vem sendo cada vez mais destacada como alimento com propriedades funcionais, isto é, apresenta compostos de benefícios a saúde humana além das propriedades nutricionais básicas. O ômega 3 e o ômega 6 são ácidos graxos essenciais para o funcionamento do organismo dos seres humanos, e sua obtenção ocorre através da alimentação. A linhaça é uma fonte rica em ômega 3, podendo ser uma alternativa para a dieta, estes ômegas se mostram capazes de reduzir o risco da obesidade e de colesterol (WU et al., 2019; KANIKOWSKA et al., 2020).

Conforme apresentado na Figura 2, o produtor de leite é responsável pela decisão de quais alimentos fornecer aos animais, e proporcionar condições ambientais favoráveis para o seu conforto e bem-estar. Este conjunto de fatores influencia diretamente a quantidade e a qualidade do leite produzido, bem como na reprodução. Por fim e não menos importante, o consumidor final, tendo a possibilidade de consumir produtos funcionais, isso em função do alimento e o manejo que o animal recebe.

Figura 2 – Esquema com os elos da Cadeia Produtiva do Leite



Autoria própria através do aplicativo Canva.

## 2.8 BONIFICAÇÃO NA PRODUÇÃO DE LEITE

Os programas de pagamento com base na qualidade do leite são relevantes para o setor de produção de leite, uma vez que possibilitam aos produtores aumentarem seus lucros mediante a evolução na qualidade do leite. Busanello et al. (2020) encontraram resultados positivos, onde o valor final pago ao produtor de leite sofreu alteração significativa por meio de níveis melhorados, como proteína, gordura, contagem bacteriana total e contagem de células somáticas.

Para melhorar a qualidade do leite, Boas Práticas Agropecuárias podem ser implementadas nas propriedades leiteiras, as quais são uma soma de tarefas realizadas dentro da fazenda com o intuito de assegurar o bem estar, saúde e segurança do homem, animais e ambiente. Estas práticas se mostram eficazes quando aplicadas em seu nível máximo, retornando o capital investido de forma rápida (PAIXÃO et al. 2014).

Há mudanças significativas no leite com a inclusão de sistema de pagamento por qualidade. Ocorre melhoria na qualidade higiênica do produto com a inclusão da bonificação da contagem de células somáticas e contagem bacteriana total neste formato de produção. Esta forma de pagamento não só demonstra maior retorno financeiro ao produtor, como também a indústria de lácteos (PASIC et al. 2016).



## 2.9 INSTRUÇÕES NORMATIVAS

A cadeia produtiva do leite vem experimentando uma evolução em todos os elos de sua rede. As instruções normativas são algumas formas de regularizar e padronizar o leite produzido nacionalmente. A Instrução Normativa 76 (BRASIL, 2018) está em vigor desde 26 de novembro de 2018 e auxilia o produtor a se enquadrar no mercado.

A Normativa 76 exige teores mínimos de 3,0g/100g para gordura, 2,9g/100g para proteína, 4,3g/100g para lactose, 8,4g/100g para sólidos não gordurosos e 11,4g/100g para sólidos totais. Já para níveis de Contagem de Células Somáticas (CCS) e Contagem Padrão em Placas (CPP) os níveis máximos permitidos são de 500.000 CS/mL e 300.000 UFC/mL, respectivamente.

Busanello et al. (2017), ao avaliarem dados de rebanhos de três regiões do Brasil, concluíram que a incidência de mastite subclínica ocorre de forma relevante em todos os estados estudados. O que mostra a falta de incentivo e a necessidade de implantar programas de qualidade do leite.

### **3. ARTIGO: ALTERNATIVAS ALIMENTARES DE REBANHO HOLANDÊS NO NOROESTE DO RIO GRANDE DO SUL DURANTE O VERÃO**

#### **RESUMO**

Objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão de diferentes fontes lipídicas na dieta de vacas da raça Holandês em sistema semi-confinado sobre o estresse pelo calor, produção, composição e perfil dos ácidos graxos do leite e o comportamento animal. Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandês, distribuídas em dois quadrados latino 4x4 com vacas multíparas e um quadrado latino 4x4 de vacas primíparas. Os tratamentos utilizados foram de Controle, Gordura Protegida, Linhaça e Mistura (Gordura protegida + Linhaça). No 11° e 12° dias de cada período experimental foram realizadas as coletas de leite e amostras de leite quanto ao perfil de ácidos graxos que foram congeladas a -20 °C para posteriormente serem analisadas. No 13° dia de cada período foi realizada a avaliação do comportamento animal durante 24 horas. Foram realizadas análises de variância e quando necessário utilizou-se o teste de comparação de médias Tukey A atividade de pastejo em ambos os tratamentos teve maior pico após a ordenha da manhã entre às 8 e às 10h. A produção de leite, e a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura não apresentaram diferença entre os tratamentos. A produção de lactose em porcentagem e em kg/vaca/dia não diferiu entre os tratamentos. Quanto à produção de sólidos em quilograma e em percentual, os tratamentos com gordura protegida e mistura foram inferiores ao tratamento com linhaça e todos os três não diferiram do tratamento controle. Houve maior produção de ácido graxo esteárico (C18:0) para os tratamentos Linhaça e Mistura, os quais não diferiram do tratamento Gordura, sendo que este último não diferiu do tratamento Controle. As fontes lipídicas não alteraram consideravelmente a produção de leite, mas foram significativas na alteração do perfil dos ácidos graxos.

#### **PALAVRAS-CHAVE**

Comportamento, produção de leite, composição do leite, ácidos graxos,

#### **INTRODUÇÃO**

Em função do aumento das temperaturas globais, efeitos do estresse pelo calor podem ser observados também em áreas de clima temperado, e não mais somente em regiões de clima sub-tropical (Polsky and von Keyserlingk, 2017). Animais de todos os níveis de produção são afetados pelo estresse calórico. Dias mais longos, temperaturas elevadas e

sombreamento falho no verão são alguns fatores que proporcionam condições extremas de calor aos animais (Fagan et al., 2010).

A bovinocultura de leite obteve avanços significativos nos últimos 100 anos, parte considerável, em função dos programas de melhoramento genético, sobretudo em países como Estados Unidos da América, Canadá, Alemanha e Israel. As características desejadas nas vacas de leite evoluíram em resposta às necessidades dos produtores, consumidores e da sociedade, passando de características de produção de leite, para um equilíbrio entre produtividade, fertilidade, saúde, longevidade e mitigação de gases de efeito estufa (Miglior et al., 2017).

O impacto negativo no bem-estar das vacas leiteiras pode ser reduzido através da previsão antecipada do risco do estresse pelo calor. Logo, as tentativas de amenizar o estresse pelo calor estão se mostrando ineficientes nas respostas dos animais para manter as condições homeotérmicas. O estresse pelo calor pode ser observado com base em sintomas clínicos observáveis, em conjunto com altas temperaturas e níveis elevados de umidade (Herbut et al., 2018).

A inclusão de ácidos graxos na alimentação para vacas leiteiras pode ser muito benéfica, especialmente levando em conta o papel positivo na fertilidade e reprodução, e no enriquecimento da composição dos ácidos graxos do leite (Bionaz et al., 2020). Esta inclusão vem sendo cada vez mais estudada, principalmente na última década, pois há um interesse nesta fração do leite, como um potencial nutracêutico (Bernard et al., 2018).

A comunidade de pesquisadores tem entendimento de que a dieta suplementada com gordura insaturada pode ser uma forma de reduzir a emissão de gases de efeito estufa emitidos pelos animais ruminantes, como o metano ( $\text{CH}_4$ ) (Beauchemin et al., 2020). O uso de linhaça como esta fonte vem sendo cada vez mais estudado, isto em função do seu alto teor de ácido  $\alpha$ -linolênico (C18: 3n-3), o qual se mostrou eficiente na inibição da metanogênese do rúmen em vacas leiteiras (Benchaar et al., 2015).

A inclusão de óleos vegetais na dieta de ruminantes, torna o perfil de ácidos graxos do leite nutricionalmente mais saudável para dietas humanas (Oliveira et al., 2021). Por outro lado, Livingstone et al., (2015), demonstraram que a inclusão de linhaça na dieta de vacas em lactação pode reduzir a produção de metano.

Desta forma, o fornecimento de dietas lipídicas poderá influenciar no consumo, produção de leite e perfil de ácidos graxos no leite, os quais são importantes para a saúde humana. Em função disto, objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão de diferentes fontes

lipídicas na dieta de vacas da raça Holandês semi-confinadas durante o verão sobre produção, composição e perfil dos ácidos graxos do leite e o comportamento animal.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em parceria entre a Escola Estadual Técnica Celeste Gobbato (EETCG) e a Universidade Federal de Santa Maria – Campus de Palmeira das Missões, no período de janeiro a março de 2011, sendo desenvolvido pelo grupo de pesquisa Inovazoot (Gestão na Integração Produção Vegetal com Produção de Ruminantes). O clima é do tipo temperado úmido com verões quentes "Cfa" (Alvares et al., 2013). O solo é classificado como Latossolo vermelho distrófico típico LVd3 (Streck et al., 2002).

Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandês, preta e branca, homogêneas para a idade, fase de lactação, número de lactações e produção de leite, distribuídas em dois quadrados latino 4x4 com vacas multíparas e um quadrado latino 4x4 de vacas primíparas. Cada período experimental foi de 15 dias, sendo dez destinados a adaptação dos animais e cinco para as coletas de dados do consumo de matéria seca, produção de leite, comportamento animal e parâmetros fisiológicos.

As vacas foram distribuídas nos seguintes tratamentos:

**CONTROLE:** Pastagem de sorgo forrageiro (*Sorghum bicolor*) + pastagem de tifton (*Cynodon sp.*) + silagem de aveia (*Avena sp.*) + concentrado convencional composto por milho moído, farelo de soja, farelo de trigo e suplemento mineral;

**GORDURA: PROTEGIDA:** Pastagem de sorgo forrageiro + pastagem de tifton + silagem de aveia + concentrado convencional com adição de 278g de gordura protegida;

**LINHAÇA:** Pastagem de sorgo forrageiro + pastagem de tifton + silagem de aveia + concentrado convencional com adição de 790g de grão de linhaça (*Linum usitatissimum*);

**MISTURA:** Pastagem de sorgo forrageiro + pastagem de tifton + silagem de aveia + concentrado convencional com adição de 139g de gordura protegida e 395g de grão de linhaça;

O concentrado utilizado (Tabela 1) foi o mesmo para todos os tratamentos. A adição das fontes lipídicas foi realizada de forma isoenergética.

Tabela 1. Composição do concentrado utilizado para todos os tratamentos

Ingrediente	Percentual
Milho grão	42,2
Farelo de soja (46% PB)	35,0
Farelo de trigo	17,4
Premix mineral-vitamínico*	4,4
Sal comum	1,0

\*Composição do premix mineral-vitamínico por kg de produto: cálcio 190g; fósforo 78,8g; enxofre 39,2 g; potássio 9,8 g; magnésio 19,6 g; cobalto 120 mg; cobre 735 mg; iodo 39,2 mg; zinco 2.450 mg; manganês 1.636 mg; selênio 19,6 mg; sódio 85 g; flúor (máx) 800 mg; antioxidante 2.475 mg; solubilidade do fósforo em ácido cítrico a 2% = 90%; vitamina A 205.800 UI; vitamina D3 58,800 UI; vitamina E 784 mg;

As pastagens de sorgo e tifton foram subdivididas em faixas com o uso de cerca elétrica. O tamanho das faixas foi determinado em função da disponibilidade de matéria seca por hectare, para manter uma oferta de dez quilogramas de matéria seca para cada 100 kg de peso vivo. Foi utilizado o sistema de pastejo intermitente, sendo usada uma faixa por dia e período de descanso conforme o crescimento da forragem.

Para determinação das ofertas de matéria seca das pastagens, foi realizado nos dias de avaliação o corte de quatro amostras de 0,25 m<sup>2</sup> na faixa destinada ao pastejo dos animais antes da entrada dos mesmos. Da mesma forma, após a retirada dos animais do pasto foram coletadas mais quatro amostras para determinação da matéria seca residual. Por diferença entre a matéria seca e a matéria seca residual foi estimado o consumo médio dos animais. Na pastagem de sorgo foi determinada a densidade de matéria seca a cada 30 cm de altura em função da heterogeneidade desta espécie vegetal e que, por conseguinte pode afetar o consumo voluntário.

A ordenha da manhã era realizada às 5h e 30min e após os animais seguiam para o piquete de sorgo e às 11h retornavam para os canzils onde recebiam 50% da silagem de aveia, do concentrado e do tratamento. Às 13h e 30min os animais eram conduzidos a um piquete com sombra e água à vontade onde permaneciam até a ordenha da tarde (16h). Após os animais recebiam o restante (50%) da silagem, do concentrado e do tratamento e às 19h seguiam até o piquete de tifton onde passavam à noite. Todos os horários supracitados eram do horário de verão oficial de Brasília.

O consumo de silagem e de concentrado foi mensurado individualmente, pela pesagem da quantidade ofertada e de suas respectivas sobras, tanto pela parte da manhã quanto à tarde. A quantidade ofertada foi ajustada diariamente a fim de proporcionar sobras entre cinco e dez por cento.

No 11° e 12° dias de cada período experimental foram realizadas as coletas de leite de cada vaca, cujas amostras eram compostas pela produção de leite da manhã e da tarde. Para determinação dos teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, contagem de células somáticas e nitrogênio uréico do leite, as amostras foram colocadas em recipientes com bronopol como conservante e enviadas antes de 24 horas para o Serviço de Análises de Rebanhos Leiteiros (SARLE) da Universidade de Passo Fundo (UPF), Passo Fundo – RS.

As amostras de leite para avaliação do perfil de ácidos graxos foram realizadas nos 11° e 12° dias de cada período experimental e foram congeladas a -20 °C para posteriormente serem analisadas. No 13° dia de cada período dos quadrados latino foi realizada a avaliação do comportamento animal durante 24 horas. Nesse dia os animais foram observados a cada dez minutos, onde se determinou o tempo de pastejo, o tempo de ócio e o tempo de ruminação dos mesmos.

Foram coletadas em intervalos de duas horas a temperatura ambiente e a umidade relativa do ar (URA) através de um termo higrômetro, além da velocidade do vento com o auxílio de um anemômetro de hélice. Foi mensurada nesse mesmo horário através de um termômetro de infravermelho a temperatura externa das vacas em vários pontos como: mandíbula, peito e glândula mamária. Em três momentos do dia (6, 12 e às 16h) foram mensuradas a temperatura retal das vacas utilizando em termômetro de mercúrio inserido na ampola retal por três minutos, além da contagem das frequências cardíaca e respiratória, que foram obtidas pela contagem dos batimentos do coração pela artéria caudal e dos movimentos do flanco respectivamente, durante 20 segundos, sendo que esse valor foi multiplicado por três para se obter as frequências por minuto. No 14° dia de cada período experimental foi estimado o escore de condição corporal conforme o (NRC, 2021) e peso vivo médio de cada vaca estimado pelo uso de fita métrica.

O cálculo do Índice de Temperatura e Umidade (ITU) foi realizado pela fórmula desenvolvida por Baccari et al., (1983, apud (Souza et al., 2004):

$$ITU = T_s + 0,36 T_o + 41,2$$

em que,  $T_s$  = temperatura do termômetro de bulbo seco (°C), e  $T_o$  = temperatura do ponto de orvalho (°C). A avaliação desse índice foi realizada de acordo com Azevedo et al. (2005) que relatam que valores de ITU iguais ou menores de 70 indicam condição ambiental normal para os animais, de 70 a 72 inicia-se uma situação de alerta e de 72 a 78 está acima do índice crítico para a produção de leite, causando diminuição da mesma.

A produção de leite foi corrigida para 3,5% de gordura conforme a fórmula proposta por Tyrrell e Reid (1965 apud Leiva et al., 2000):

$$PL_{corr} = (12,82 * P_{gord}) + (7,13 * P_{ptn}) + (0,323 * PL)$$

em que: PL = produção de leite (kg/dia), P<sub>gord</sub> = produção de gordura (kg/dia) e P<sub>ptn</sub> = produção de proteína (kg/dia).

O perfil de ácidos graxos do leite foi determinado, após extração da fração lipídica, seguida de saponificação e esterificação dos ácidos graxos, por cromatografia gasosa (aparelho Agilent 6890), utilizando-se uma coluna capilar de sílica fundida, SP-2560 (100m de comprimento recomendada para a determinação de CLA) e detector de ionização de chama (FID). As corridas tiveram uma duração aproximada de 70 minutos. A temperatura do injetor foi de 250°C e do detector de 300°C. A injeção foi no modo “split”, com relação 21:1. O gás de arraste foi o hidrogênio com fluxo de 40ml/minuto e 18psi de pressão na cabeça da coluna. Os picos dos ácidos graxos foram identificados por comparação com os tempos de retenção de padrões (CLA: mistura constituída de ésteres do ácido octadecadienóico cis 9, trans 11 e cis 10, trans 12- Sigma; Ácido vacênico: éster metílico do ácido trans 18:1- Sigma; demais ácidos graxos: mix com 37 ésteres metílicos de ácidos graxos- Supelco). Como padrão interno foi usado o ácido nonadecanóico. Os valores foram expressos em gramas por 100 gramas de ácidos graxos.

Para produção, composição e ácidos graxos do leite foram realizadas análises de variância e quando necessário utilizou-se o teste de comparação de médias Tukey a 5% de probabilidade utilizando-se o software Minitab (Mckenzie and Goldman, 1999). Quanto ao comportamento e aos parâmetros fisiológicos das vacas lactantes foram apresentados os resultados numéricos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O levantamento da umidade relativa do ar (URA) e da temperatura no período de realização do experimento permitem mensurar os efeitos destes índices na resposta das vacas em lactação ao estresse pelo calor. À noite a umidade relativa do ar (URA) foi maior do que durante o dia (Figura 1). No entanto, as temperaturas foram mais amenas (Figura 2), ficando dentro da zona termoneutra (cinco a 20°), considerada pelo (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001) estresse pelo calor durante a noite. Em contrapartida, durante o dia a URA foi menor, apresentando a mínima de 57% às 15h, mas a temperatura do ar das 9 às 22h ultrapassou a zona termoneutra.

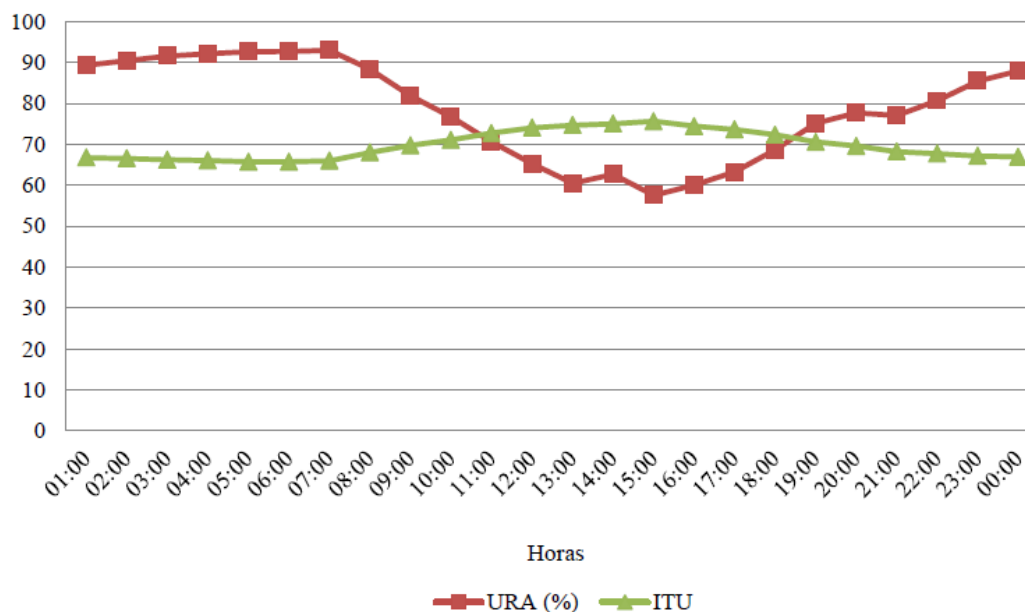


Figura 1. Valores médios de umidade relativa do ar (URA) e Índice de Temperatura e Umidade (ITU) referente aos dias de coleta de dados entre janeiro e março de 2011

O Índice de Temperatura e Umidade (ITU) relaciona o efeito da temperatura e da URA sobre o animal. Desse modo a interação ocorrida durante o dia entre essas variáveis ambientais indicou que os animais foram acometidos por estresse pelo calor durante dez horas por dia. Conforme variação do ITU anteriormente descrito, o ITU referente às 10 e às 19h caracterizou alerta quanto a influência dos fatores ambientais sobre o animal, já o período das 11 às 18h caracterizou-se por estar acima do índice crítico para a produção leiteira ( $\geq 84$ ). O valor máximo de ITU ocorreu às 15h onde atingiu 75,6 (Figura 1). Os valores de ITU acompanharam os aumentos da temperatura do ar ao longo do dia, reduzindo ao entardecer.

O período e o percentual das principais atividades comportamentais realizadas pelas vacas em lactação durante as 24 horas de observação estão apresentadas na Tabela 2. Grande parte dessas atividades estão intimamente ligadas a ingestão de alimentos pelo animal. (Fraser, 1980) destaca que o comportamento alimentar dos herbívoros consiste na integração das demandas quantitativas, ritmo diurno, seletividade, ingestão de fluídos, requerimentos nutricionais, competição, técnica de pastejo e produção diária do animal. Vizzotto et al. (2015) constataram que, mesmo em condições moderadas de estresse térmico, o acesso à sombra interfere em atributos fisiológicos e comportamentais das vacas a pasto, resultando em alterações no comportamento social e ingestivo de vacas em pastejo.



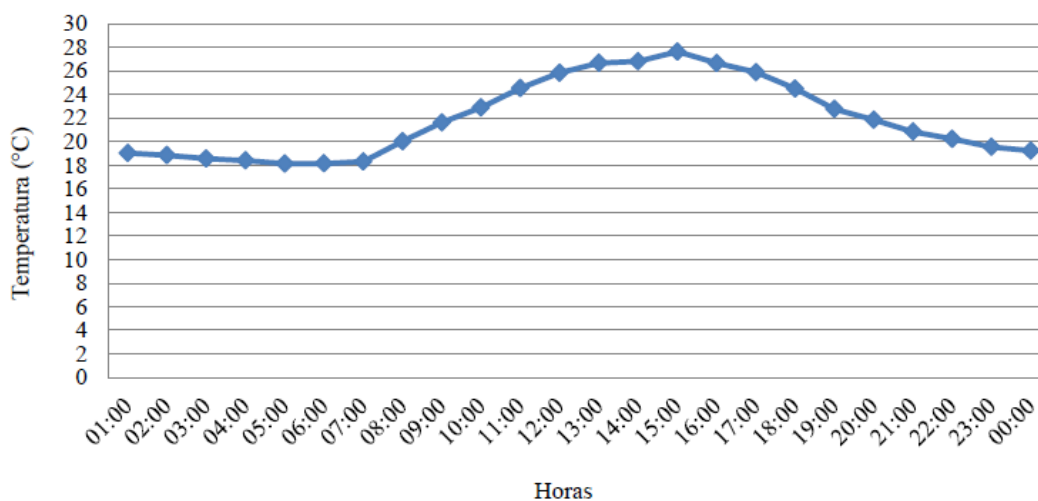


Figura 2. Valores médios de temperatura do ar referente aos dias de coleta de dados entre janeiro a março de 2011

O alimento fornecido via cocho é uma porção bastante considerável da dieta, em média 2 horas e 35 minutos são destinados a essa atividade (Tabela 2), o que corresponde a 40,9% do tempo total utilizado para o consumo de alimento. O pico de consumo no cocho dos tratamentos, exceto para o com inclusão de linhaça ocorreu das 17 às 18h, semelhante ao encontrado por Damasceno et al., (1999) ao avaliarem o comportamento de vacas Holandês com acesso à sombra constante e limitada.

O tratamento controle apresentou maior tempo de pastejo em relação aos demais tratamentos, como está demonstrado na Tabela 2. Esse fato ocorreu pela menor densidade energética da dieta oriunda da ausência de fontes lipídicas no concentrado desses animais, com isso, o aumento no consumo de pastagem é uma tentativa de compensar o menor aporte nutricional.

A atividade de pastejo em ambos os tratamentos teve maior pico (em média 48 minutos) após a ordenha da manhã entre às 8 e às 10h, sendo que um novo pico de pastejo (em média 40 minutos), porém com menor intensidade, ocorreu após a ordenha da tarde entre às 19 e às 20h, o que confirma o fato de os animais realizarem essa atividade nos momentos em que a temperatura ambiente diurna se encontra mais amena. Haygert-Velho (2007) também encontrou picos de pastejo nos períodos posteriores as ordenhas ao avaliar o comportamento ingestivo de vacas Jersey em pastagem cultivada com e sem suplementação. É importante ressaltar que o horário de ocorrência dos picos de pastejo dos animais sofreram

influência do manejo a que esses animais eram submetidos, visto que naturalmente as vacas tendem a realizar o pastejo antes do amanhecer e do anoitecer (Fraser, 1980).

O maior pico de pastejo observado após a ordenha da manhã em comparação ao do entardecer se deve ao fato de que após a ordenha da tarde era ofertado para as vacas lactantes à alimentação no cocho e depois eram conduzidas para a pastagem. Com isso, os animais se saciaram com o alimento do cocho e reduziram o tempo de consumo de pasto. Outro fato que pode ter influenciado é a espécie forrageira ofertada, visto que no período da manhã os animais permaneceram em pastagem de sorgo forrageiro e o entardecer na grama tifton.

Quanto à distribuição do tempo de ruminação durante as 24 horas de avaliação, observou-se que os animais ruminaram mais durante o período da noite. Fraser (1980) também relatou que bovinos ruminam mais após o anoitecer, seguido de um declínio antes do amanhecer onde iniciam um novo pastejo. Esse autor ainda ressalta que em 24 horas um animal ruma de 15 a 20 vezes, sendo que a duração de cada um destes períodos pode oscilar entre dois minutos à uma hora.

Ferreira (2010) ao avaliar o comportamento de bovinos durante o dia verificou que animais submetidos a um piquete com sombra dispersa ruminaram 24% do tempo observado, contra 13% dos animais do piquete com ausência de sombra. Desse modo, observa-se que o animal evita o ato de ruminar nas horas mais quentes do dia, visando diminuir a produção de calor metabólico. Pode ser levado em conta também que o tempo de alimentação e o tempo de ruminação sofrem interferência pelas características químicas e físicas da dieta, mas outros fatores, como o manejo da alimentação, a variabilidade da vaca e a saúde, podem ter efeitos igualmente grandes no tempo de ruminação (Beauchemin, 2018).

Das atividades desenvolvidas pelos animais, o ócio representou em média 31% do tempo observado, sendo que ao avaliar os tratamentos, o controle, o menor tempo de ócio em virtude da utilização desse tempo na realização de funções como pastejo e ruminação (Tabela 2). Embora o pico de desenvolvimento dessa atividade tenha ocorrido durante a ordenha da manhã, o período das 11 às 19h representou 42,8% do tempo total destinado ao ócio, o que confirma o conceito de Damasceno et al., (1999) que relataram que o ócio é mais freqüente no período de maior radiação solar. É importante ressaltar também, que no horário entre as 13 e às 16h os animais ficaram em piquete com pouca disponibilidade de sombra, o que pode ter contribuído para aumentar o tempo de ócio.

Variáveis	N	Tratamento				EPM	P-valor
		Controle	Gordura	Linhaça	Mistura		
Tempo de Ócio (h)	32	7,23	7,26	7,57	7,55	0,366	0,6135
Tempo de Ócio (%)	32	30,6	30,9	32,0	31,8	1,54	0,6624
Tempo de Ruminação (h)	32	8,97	9,03	8,66	8,72	0,353	0,6145
Tempo de Ruminação (%)	32	37,8	38,1	36,6	36,8	1,48	0,6081
Tempo de Pastejo (h)	32	3,89	3,63	3,74	3,71	0,378	0,7121
Tempo de Pastejo (%)	32	16,4	15,4	15,8	15,7	1,59	0,7681
Tempo de Cocho (h)	32	2,67	2,50	2,68	2,48	0,170	0,3987
Tempo de Cocho (%)	32	11,3	10,5	11,4	10,4	0,72	0,3492
Tempo Caminhando (h)	32	0,88	0,98	0,89	1,10	0,214	0,5982
Tempo Caminhando (%)	32	3,57	4,12	3,76	4,64	0,900	0,5449
Tempo de Água (h)	23	0,23	0,24	0,24	0,24	0,050	0,9890
Tempo de Água (%)t	23	0,90	0,85	1,03	0,86	0,255	0,9079
Consumo MPS Cocho	48	11,2	11,0	11,0	10,8	0,37	0,1651
Consumo MPS Cocho % PV	35	1,95	2,03	2,00	1,99	0,118	0,4951

Tabela 2. Comportamento das vacas da raça Holandês suplementadas com diferentes fontes lipídicas.

O principal momento em que as vacas em lactação foram observados exercendo atividade de locomoção foi no deslocamento até as pastagens e a sala de ordenha. O gasto energético oriundo desse deslocamento é considerável visto que alguns piquetes estavam localizados em terrenos declivosos, o que exige maior esforço do animal. Quanto aos tratamentos, as vacas que receberam mistura foram as que mais destinaram tempo para locomoção, enquanto os animais do tratamento controle foram os que menos se locomoveram (Tabela 2). Isso ocorreu pelo fato de que os animais que receberam os tratamentos com adição de fontes lipídicas destinaram mais tempo a seleção do alimento a ser pastejado, enquanto os animais do tratamento controle selecionaram menos a dieta em função da maior necessidade de consumo para atender suas exigências.

O tempo destinado ao consumo de água para todos os tratamentos ficou abaixo de 1%, o que demonstra a baixa disponibilidade de água nos piquetes, desse modo o consumo de água restringiu-se a momentos antes e após as ordenhas e após a saída dos animais do cocho de alimentação. Perissinotto et al. (2005), que também observaram em seus estudos um maior consumo de água após as ordenhas, explicam que isso ocorre em função da necessidade do animal repor a água que foi perdida através do leite.

Quanto à procura por água após o consumo no cocho pode ser em virtude do tipo de dieta ofertado, onde dietas com mais concentrado tendem a aumentar a ingestão hídrica

(Araújo et al., 2010). Entretanto Goularte et al. (2011), ao avaliarem o comportamento ingestivo de vacas submetidas a diferentes níveis de concentrado não observaram efeito desses níveis sobre atividade de hidratação.

Ammer et al. (2018) relatam interferência das condições climáticas moderadas na ingestão de água e no consumo de matéria seca de vacas leiteiras de alta produção, sendo que a quantidade e a frequência da ingestão da água foram mais altas em condições de estresse por calor, se comparadas com dietas com baixo teor de matéria seca. Reece (1996) relata que a circulação de água em uma vaca em lactação é de 56 litros e que a sua ingestão é proporcional a perda, sendo então de fundamental importância uma boa qualidade e disponibilidade de água. O mesmo autor ainda afirma que em uma vaca lactante a perda de água aumenta não somente em função à produção de leite, mas também porque há uma maior produção de fezes oriunda do maior consumo de alimento.

Portugal et al. (2000), ao avaliarem o comportamento de vacas Holandês concluíram que a ingestão de água acompanhou a ingestão diária de alimento. Entretanto, nesse experimento o tratamento controle o menor tempo destinado ao consumo de água e o maior para o consumo de alimento. Embora a água seja indispensável na criação de qualquer espécie animal, a oferta de água é um aspecto pouco considerado pelos produtores de leite da região. A pouca disponibilidade de água, muitas vezes aliada a baixa qualidade desse recurso, limita a ingestão hídrica dos animais refletindo uma baixa produção leiteira, visto que a água compõe aproximadamente 87% do leite.

A avaliação dos parâmetros fisiológicos demonstra os valores médios de temperatura retal de todos os tratamentos mantiveram-se dentro da faixa considerada normal (Tabela 3), corroborando com os estudos realizados por Martello et al., (2004), no qual essa variável manteve-se na faixa entre 37,5 a 39,3 °C. Entretanto, observou-se aumento gradual dessa variável ao longo do dia, sendo que isso ocorreu pelo fato da temperatura corporal dos animais apresentar ritmo circadiano, com a máxima ao entardecer e a mínima nas primeiras horas da manhã (Rossarolla, 2007). Em estudo realizado por Daltro et al. (2017), a temperatura retal média foi de 40,84°C, para experimento realizado em Minas Gerais, em animais da raça Holandês. A temperatura retal é o indicador mais utilizado de temperatura corporal e tem sido muito utilizado como um indicador fisiológico de estresse por calor (Brito et al., 2020).

Variáveis	N	Tratamento				EPM	P-valor
		Controle	Gordura	Linhaça	Mistura		
Temperatura Retal (6h)	32	38,1	38,1	38,1	38,1	0,19	0,9543
Temperatura Retal (12h)	32	38,8	39,0	38,9	38,8	0,21	0,3922
Temperatura Retal (16h)	32	39,1	39,0	39,1	38,9	0,31	0,6828
Frequência Cardíaca (6h)	32	67,1	72,2	64,9	69,3	2,85	0,3007
Frequência Cardíaca (12h)	32	73,9	78,1	75,2	74,3	3,02	0,3464
Frequência Cardíaca (16h)	32	73,8	74,6	72,8	71,4	4,14	0,7799
Frequência Respiratória (6h)	32	45,2	54,3	54,0	50,0	3,47	0,1008
Frequência Respiratória (12h)	32	58,0	61,9	58,1	55,2	5,84	0,6215
Frequência Respiratória (16h)	32	68,0	69,4	68,6	62,3	8,81	0,6235

Tabela 3. Valores médios dos parâmetros fisiológicos de vacas da raça Holandês submetidas a dietas com diferentes fontes lipídicas

Os valores fisiológicos de frequência cardíaca (Tabela 3) para bovinos de acordo com Reece (1996) é entre 60 a 70 bat.min<sup>-1</sup>. Desse modo, às 6h o tratamento com adição de gordura protegida ultrapassou esse limite, enquanto os demais tratamentos mantiveram-se normais. Nos horários das 12 e das 16h ocorreu um aumento dessa variável em todos os tratamentos sendo que todos ultrapassaram os 70 bat.min<sup>-1</sup>, refletindo nesse período a carga de calor excessiva sobre os animais. É importante ressaltar, que embora tenha indicado frequência cardíaca alterada às 12 e às 16h, o tratamento mistura teve menores valores nesses horários comparados com os demais tratamentos. Rossarolla (2007) ao avaliar a frequência cardíaca de vacas Holandês, observou valores de 76,37 bat.min<sup>-1</sup> para animais mantidos a sombra e de 81,93 bat.min<sup>-1</sup> para animais sem acesso a sombra. Valores médios próximos a 99 bat.min<sup>-1</sup> foram encontrados em avaliações realizadas em Minas Gerais, onde a temperatura média diária variou entre 20,7 e 37,9°C e umidade relativa do ar chegando a 95% (Daltro et al., 2017).

A frequência respiratória às 6h não indicou estresse em nenhum tratamento pois de acordo com Ferreira (2010) frequências abaixo de 60 mov.min<sup>-1</sup> não caracterizam condições estressantes nos animais. Às 12h ocorreu estresse nos animais do tratamento com linhaça, pois a média para essa variável ultrapassou o valor considerado adequado fisiologicamente, já às 16h foi observado estresse em todos os tratamentos, sendo o tratamento mistura com menor efeito (Tabela 2). As alterações na frequência respiratória podem ocorrer por vários fatores, entre eles o tamanho do corpo, a idade, o grau de exercício, a excitação, a temperatura ambiente, a prenhez, o grau de preenchimento do trato digestivo e o estado de saúde (Reece, 1996).

A produção de leite, e a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura (Tabela 4), não apresentaram diferença entre os tratamentos ( $P>0,05$ ). Nos resultados referentes à produção de gordura no leite, o tratamento com linhaça apresentou o maior valor diferindo do tratamento com gordura protegida ( $P<0,05$ ), tanto em kg/vaca/dia, quanto em porcentagem. A inclusão de uma combinação soja e linhaça extrusada (100g/kg) nas dietas de vacas de leite, acrescentaram a produção de leite e sólidos não gordurosos, porém, houve redução no percentual de gordura do leite. Entretanto, houve melhoras na qualidade da gordura do leite produzido por estes animais (Dawod et al., 2020).

Variáveis	N	Tratamento				EPM	P-valor
		Controle	Gordura	Linhaça	Mistura		
Produção de Leite (kg)	48	24,1	25,3	24,4	24,5	0,88	0,1864
Produção de Leite Corrigida (3,5%)	48	23,0	23,0	23,7	22,8	0,89	0,2908
Sólidos Totais do Leite (%)	48	11,48ab	11,24b	11,65a	11,32b	0,177	0,0042
Sólidos Totais do Leite (kg)	48	2.81 ab	2.75 b	2.85 a	2.77 b	0,043	0,0031
Gordura (%)	48	3.35 ab	3.04 b	3.49 a	3.19 ab	0,132	0,0115
Gordura (kg)	48	0.82 ab	0.74 b	0.85 a	0.78 ab	0,031	0,0082
Lactose (%)	48	4,47	4,50	4,44	4,46	0,056	0,5831
Lactose (kg)	48	1,10	1,10	1,09	1,10	0,014	0,6308
Proteína (%)	48	2,82	2,82	2,87	2,83	0,049	0,2358
Proteína (kg)	48	0,69	0,69	0,70	0,69	0,012	0,2489
Nitrogênio Ureico do Leite (mg/dL)	36	17,1	16,2	17,9	16,9	1,08	0,0738
Contagem de Células Somáticas (cels/mL*1,000)	46	58.9 ± 23.29	69.0 ± 28.66	106.3 ± 41.77	108.7 ± 44.34		0,3825

Tabela 4. Valores médios da produção, composição do leite, e contagem de células somáticas de vacas da raça Holandês recebendo diferentes fontes lipídicas

A produção de sólidos totais em kg/vaca/dia não diferiu entre os tratamentos ( $P>0,05$ ), sendo que o tratamento com gordura protegida apresentou o menor teor de sólidos, o que certamente ocorreu em função de ter apresentado menor teor de gordura no leite.

Quanto à produção de sólidos em percentual, o tratamento com gordura protegida diferiu dos demais ( $P>0,05$ ). Oliveira et al. (2021) encontraram resultados de redução da porcentagem de sólidos totais no leite em vacas alimentadas com óleo de linhaça, provavelmente um reflexo da diminuição da produção de gordura. Em função dos sólidos

totais correspondem à soma de gordura, proteína e lactose, uma redução na produção de gordura interfere diretamente o percentual de sólidos totais.

Resultados encontrados por Oliveira et al. (2021), mostraram redução na porcentagem e no rendimento de gordura do leite de animais com inclusão de 2,5% de óleo de linhaça na dieta, neste caso a relação volumoso-concentrado da dieta foi de 50:50, o que pode ter ocasionado esta redução. A suplementação de linhaça também teve poucos efeitos nos teores de gordura e proteína do leite em estudo realizado por Petit (2010).

Os menores teores de gordura no leite das vacas que receberam as dietas com gordura protegida podem ser em virtude da dissociação dos sais de cálcio pelo baixo pH do rúmen, em função a essa fonte lipídica ser fornecida juntamente com o concentrado, que provoca uma redução do pH ruminal aproximadamente duas horas após o seu consumo. Desse modo, a gordura protegida deixa de ser inerte ao rúmen, podendo sofrer biohidrogenação ruminal.

Fontes lipídicas ricas em ácidos graxos poliinsaturados como a gordura protegida podem alterar o perfil lipídico da gordura do leite aumentando o ácido linoléico conjugado (CLA). Leite (2006) relata que a sintetização de CLA através da biohidrogenação ruminal ocorre em função a um desvio na seqüência de biohidrogenação pelo favorecimento de bactérias como a *Megasphaera elsdenii* que usam o lactato como substrato e produzem o CLA trans-10 cis-12. Segundo (NRC, 2021) isômeros de CLA ou seus metabólitos contendo dupla ligação de configuração trans na posição 10 da cadeia exercem efeito inibitório sobre a síntese de gordura. Esse processo ocorre em função à gordura do leite ser composta em quase sua totalidade por triacilgliceróis, que por sua vez são compostos por ácidos graxos sintetizados na glândula mamária através da síntese “de novo”, que tem como enzimas-chave a acetil-Coa carboxilase e ácido graxo sintetase (Paschoal, 2007).

O isômero trans-10 cis-12, inibe a ação lipogênica dessas enzimas acarretando redução na síntese “de novo” e consequente depressão da gordura no leite. Um fato que merece destaque, é que a linhaça também é uma fonte de ácidos graxos poliinsaturados, portanto esperava-se que a sua inclusão reduzisse o teor de gordura do leite, porém o tratamento com esse grão proporcionou maior valor de gordura no leite. A hipótese para esse resultado é que o óleo contido no grão da linhaça pode ter sofrido biohidrogenação ruminal completa, o que provavelmente diminuiu a produção do trans-10 cis-12 e consequentemente não reduziu a gordura do leite.

Perfield II et al. (2007) ao avaliarem o efeito da infusão abomasal de diferentes isômeros de CLA, observaram que a infusão de trans-10 cis-12 provocou o menor teor de gordura no leite. Em estudo realizado por Rego et al. (2005) onde avaliou-se a inclusão de

óleo de peixe na dieta de vacas leiteiras, também foi relatada a redução dos valores de gordura no leite a medida que aumenta a inclusão da fonte lipídica. Entretanto, Duarte et al. (2005) em experimento em Capão do Leão – RS, não encontraram diferença entre os tratamentos com inclusão de sebo bovino, gordura protegida e concentrado de grão de soja no teor de gordura do leite de vacas Jersey.

A produção de lactose em porcentagem e em kg/vaca/dia não diferiu entre os tratamentos estudados ( $P>0,05$ ). O que corrobora com estudo realizado por Côrtes et al (2010), onde avaliando inclusão de linhaça integral e sais de cálcio do óleo de linhaça não encontraram diferença na produção de lactose. A produção de proteína em kg/vaca/dia e em porcentagem, não diferiu entre os tratamentos ( $P>0,05$ ), sendo que resultados semelhantes a este estudo foram obtidos por Vilela et al. (2002) e Santos et al. (2001b). A ausência de diferenças entre os tratamentos quanto a produção de proteína, pode ser em virtude do potencial de alteração do teor de proteína por meio da nutrição ser de apenas 0,1 a 0,2 unidades percentuais (Paschoal, 2007). Contudo, Kazama (2009) ao avaliar os efeitos da administração de casca e óleo de linhaça via ruminal e por infusão abomasal, encontrou redução nos níveis de proteína e lactose do leite em kg/dia quando os produtos da linhaça foram administrados através do rúmen. Tal efeito sugere que a adição de gordura pode interferir no crescimento microbiano reduzindo o aporte de aminoácidos, ou que os lipídios aumentam a eficiência energética para a síntese do leite, sem aumentar a disponibilidade de aminoácidos para a glândula mamária, o que gera aumento da produção leiteira diluindo o teor de proteína (Santos et al., 2001).

O nitrogênio uréico do leite apresentou valores relativamente altos, indicando um desbalanço entre a proteína e os carboidratos. Esse desbalanço pode ter ocorrido em função ao baixo teor de carboidratos da dieta, em virtude da oferta de silagem de aveia de baixa qualidade.

A contagem de células somáticas do leite foi semelhante entre os tratamentos ( $P>0,05$ ). Resultados onde a contagem de células somáticas também não tiveram interferência significativas foram observados por Oliveira et al. (2021) avaliando adição de óleo de soja e óleo de linhaça. Diante disso, não se verificou os benefícios da lignana da linhaça sobre o sistema imune dos animais. Entretanto, é importante ressaltar que aparentemente a linhaça influenciou na fertilidade dos animais, e embora não tenha sido analisada estatisticamente a manifestação de cio foi maior quando os animais foram alimentados com linhaça. Esse efeito pode ser em virtude da lignana ser um fitoestrógeno que possui estrutura química muito semelhante ao estrogênio e que compete pelo mesmo receptor (Cordeiro et al., 2009).



Na Tabela 5 verifica-se o perfil de ácidos graxos de cadeia curta, média e longa contidos no leite produzido para os diferentes tratamentos. Não houve efeito ( $P=0,3025$ ) para o ácido graxo butírico (C4:0) o qual é um AG característico do leite e importante na síntese “de novo”. Também não houve efeito ( $P>0,05$ ) para o ácido caprótico (C6:0) e caprílico (C8:0). O ácido graxo C10 que deve envolver os ácidos cáprico (C10:0) e caproléico (C10:1(9) $\omega$ 1) apresentou diferença ( $P=0,0243$ ) entre os tratamentos Controle e Mistura, os quais não diferiram respectivamente dos tratamentos Gordura e Linhaça. O ácido graxo hendecanóico (C11:0) apresentou ( $P>0,05$ ) o mesmo efeito do ácido graxo anterior. O ácido graxo láurico (C12:0) não variou ( $P=0,1700$ ) conforme os tratamentos. Bergamo (2013) encontrou reduções consideráveis nos ácidos graxos de cadeia curta e média (C4:0 a C16:0), aproximadamente 15% quando acrescentado linhaça na dieta.

Variáveis	N	Tratamento				EPM	P-valor
		Controle	Gordura	Linhaça	Mistura		
C4	48	2,96	3,20	2,95	2,78	0,246	0,3025
C6	48	1,35	1,35	1,38	1,13	0,092	0,0759
C8	48	1,11	1,21	1,20	1,11	0,074	0,5259
C10	48	3.33 a	3.21 ab	3.04 ab	2.83 b	0,189	0,0243
C11	48	0.27 a	0.17 b	0.16 b	0.14 b	0,048	0,0013
C12	48	1,66	1,58	1,55	1,46	0,097	0,1700
C14	48	9.56 a	8.62 b	8.75 b	8.47 b	0,356	0,0022
C14_1n5	48	0,61	0,60	0,61	0,60	0,038	0,9883
C15	48	1.08 a	1.00 ab	0.99 ab	0.98 b	0,027	0,0414
C16	48	30,7	28,6	29,2	28,9	0,74	0,0751
C16_1n7	48	1,26	1,19	1,21	1,22	0,049	0,5643
C17	48	0.7 a	0.62 b	0.65 ab	0.66 ab	0,023	0,0181
C18	48	14.9 b	15.7 ab	16.5 a	16.5 a	0,59	0,0470
C18_elaidico	48	0.53 b	0.57 ab	0.52 b	0.62 a	0,027	0,0062
C18_vacénico	48	2.02 b	2.86 a	1.91 b	2.58 a	0,160	<0.0001
C18_1n9C	48	25.1 b	26.5 ab	26.6 ab	26.9 a	0,69	0,0257
C18_2n6C	48	1.69 ab	1.83 a	1.54 b	1.73 a	0,070	0,0014
C20	48	0,28	0,28	0,27	0,27	0,012	0,8587
C18_3n3	48	0.31 b	0.31 b	0.38 a	0.34 b	0,014	<0.0001
C18_2_c9_t11_CLA1	48	0.62 a	0.69 a	0.53 b	0.71 a	0,053	<0.0001
Saturados	48	67.9 a	65.5 b	66.7 ab	65.3 b	0,73	0,0046
Insaturados	48	32.1 a	34.5 b	33.3 ab	34.7 b	0,73	0,0046

Tabela 5. Perfil de ácidos graxos do leite de vacas da raça Holandês submetidas a diferentes fontes lipídicas durante o verão.

O ácido graxo mirístico (C14:0) foi superior ( $P=0,0022$ ) para o tratamento Controle em relação aos demais tratamentos. O ácido graxo C14\_1n5 não variou ( $P=0,9883$ ) conforme as fontes lipídicas. O ácido graxo pentadecílico (C15:0) variou ( $P=0,0414$ ) conforme as fontes lipídicas cuja maior amplitude foi entre os tratamentos Controle e a Mistura das fontes lipídicas. Os ácidos graxos palmítico (C16:0) e palmitoléico (C16\_1n7) respectivamente não variaram de acordo com os tratamentos. O ácido graxo margárico (C17:0) apresentou diferença ( $P=0,0181$ ) entre os tratamentos Controle e Gordura e ambos não diferiram ( $P>0,005$ ) dos demais tratamentos.

Houve maior produção de ácido graxo esteárico (C18:0) para os tratamentos Linhaça e Mistura, os quais não diferiram ( $P>0,05$ ) do tratamento Gordura, sendo que este último não diferiu ( $P>0,05$ ) do tratamento Controle. Maia et al. (2006) ao avaliarem fontes de óleo na dieta de cabras, também encontraram aumento na concentração de ácido esteárico (18:0), havendo somente diferença do tratamento controle para as demais fontes. Os ácidos graxos com 18 carbonos mono ou di-insaturados sofreram efeito dos tratamentos ( $P<0,05$ ). O ácido graxo elaídico o tratamento Mistura diferiu ( $P=0,0062$ ) para os tratamentos Controle e Linhaça, mas não diferiu ( $P>0,05$ ) da Gordura, o qual também não diferiu dos demais tratamentos.

Petit (2015) avaliando diferentes níveis de inclusão de linhaça para vacas até a metade da lactação, constatou que a maioria das proporções de ácidos graxos do leite sofreu alteração pelas dietas. Os únicos ácidos graxos que não diferiram entre as dietas foram 4:0, cis9-16:1, 17:0 e 22:5. Apesar do perfil de ácidos graxos do leite ter sido aperfeiçoado, a inclusão acima de 46 g/kg de MS de linhaça inteira demonstrou implicações negativas na produção de componentes do leite.

Na hipótese inicial esperava-se que o Vacênico aumentasse para os tratamentos com adição de lipídios, mas o que se verifica na Tabela 5 é que o tratamento Controle e Linhaça não diferiram ( $P>0,05$ ), sendo os tratamentos Gordura e Mistura superiores ( $P<0,0001$ ) aos tratamentos mencionados por primeiro. Assim, constatasse que a Linhaça como fonte lipídica não influenciou na produção deste ácido graxo (C18\_vacênico).

## **CONCLUSÃO**

As fontes lipídicas não alteraram consideravelmente a produção de leite, mas foram significativas na alteração do perfil dos ácidos graxos.

## **REFERÊNCIAS**

- Alvares, C.A., J.L. Stape, P.C. Sentelhas, J.L. De Moraes Gonçalves, and G. Sparovek. 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorol. Zeitschrift* 22:711–728. doi:10.1127/0941-2948/2013/0507.
- Ammer, S., C. Lambertz, D. von Soosten, K. Zimmer, U. Meyer, S. Dänicke, and M. Gauly. 2018. Impact of diet composition and temperature–humidity index on water and dry matter intake of high-yielding dairy cows. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)*. 102:103–113. doi:10.1111/jpn.12664.
- Araújo, G.G.L., T.V. Voltolini, M.L. Chizzotti, S.H.N. Turco, and F.F.R. De Carvalho. 2010. Water and small ruminant production. *Rev. Bras. Zootec.* 39:326–336. adoi:10.1590/S1516-35982010001300036.
- Azevedo, M.D., Pires, M.D.D.Á., Saturnino, H.M., Lana, Â.M.Q., Sampaio, I.B.N., Monteiro, J.B.N. and Morato, L.E. 2005. Estimativa de níveis críticos superiores do índice de temperatura e umidade para vacas leiteiras  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{3}{4}$  e  $\frac{7}{8}$  Holandês-Zebu em lactação. *Rev. Bras. Zootec.* 34:2000-2008.
- Beauchemin, K.A. 2018. Invited review: Current perspectives on eating and rumination activity in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 101:4762–4784. doi:10.3168/jds.2017-13706.
- Beauchemin, K.A., E.M. Ungerfeld, R.J. Eckard, and M. Wang. 2020. Review: Fifty years of research on rumen methanogenesis: Lessons learned and future challenges for mitigation. *Animal* 14:S2–S16. doi:10.1017/S1751731119003100.
- Benchaar, C., F. Hassanat, R. Martineau, and R. Gervais. 2015. Linseed oil supplementation to dairy cows fed diets based on red clover silage or corn silage: Effects on methane production, rumen fermentation, nutrient digestibility, N balance, and milk production. *J. Dairy Sci.* 98:7993–8008. doi:10.3168/jds.2015-9398.
- Bergamo, Lucimara. 2013. Lyophilisate dutch cow's milkfed withdietsupplemented withlinseed. *Uningá Review*, v. 16, n. 1, 2013.
- Bernard, L., M. Bonnet, C. Delavaud, M. Delosière, A. Ferlay, H. Fougère, and B. Graulet. 2018. Milk Fat Globule in Ruminant: Major and Minor Compounds, Nutritional Regulation and Differences Among Species. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 120. doi:10.1002/ejlt.201700039.
- Bettero, V.P., T.A. Del Valle, R.V. Barletta, C.E. de Araújo, E. Ferreira de Jesus, G.F. de Almeida, C.S. Takiya, F. Zanferari, P.G. de Paiva, J.E. de Freitas Júnior, and F.P. Rennó. 2017. Use of protected fat sources to reduce fatty acid biohydrogenation and improve abomasal flow in dry dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 224:30–38. doi:10.1016/j.anifeedsci.2016.12.007.

- Bionaz, M., E. Vargas-Bello-Pérez, and S. Busato. 2020. Advances in fatty acids nutrition in dairy cows: from gut to cells and effects on performance. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 11:1–36. doi:10.1186/s40104-020-00512-8.
- Brito, L.F., H.R. Oliveira, B.R. McConn, A.P. Schinckel, A. Arrazola, J.N. Marchant-Forde, and J.S. Johnson. 2020. Large-Scale Phenotyping of Livestock Welfare in Commercial Production Systems: A New Frontier in Animal Breeding. *Front. Genet.* 11:1–32. doi:10.3389/fgene.2020.00793.
- Chilliard, Y., C. Martin, J. Rouel, and M. Doreau. 2009. Milk fatty acids in dairy cows fed whole crude linseed, extruded linseed, or linseed oil, and their relationship with methane output. *J. Dairy Sci.* 92:5199–5211. doi:10.3168/jds.2009-2375.
- Cordeiro, R., P.L. Fernandes, and L.A. Barbosa. 2009. Semente de linhaça e o efeito de seus compostos sobre as células mamárias. *Rev. Bras. Farmacogn.* 19:727–732. doi:10.1590/s0102-695x2009000500013.
- Côrtes, C., da Silva-Kazama, D. C, Kazama, R., Gagnon, N., Benchaar, C., Santos, G.T.D, Zeoula, L.M. and Petit, H.V. 2010. Milk composition, milk fatty acid profile, digestion, and ruminal fermentation in dairy cows fed whole flaxseed and calcium salts of flaxseed oil. *Journal of Dairy Science* , 93:3146-3157. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2905>.
- Daltro, D. dos S., V. Fischer, E.P.M. Alfonzo, V.C. Dalcin, M.T. Stumpf, G.J. Kolling, M.V.G.B. da Silva, and C. McManus. 2017. Infrared thermography as a method for evaluating the heat tolerance in dairy cows. *Rev. Bras. Zootec.* 46:374–383. doi:10.1590/S1806-92902017000500002.
- Damasceno, J.C., F. Baccari Júnior, and L.A. Targa. 1999. Respostas comportamentais de vacas holandesas, com acesso à sombra constante ou limitada. *Pesqui. Agropecuária Bras.* 34:709–715. doi:10.1590/s0100-204x1999000400024.
- Dawod, A., H. Ahmed, R. Abou-elkhair, H.T. Elbaz, A.E. Taha, A.A. Swelum, I.A. Alhidary, and I.M. Saadeldin. 2020. Effects of Extruded Linseed and Soybean Dietary Supplementation on Lactation Performance, First-Service Conception Rate, and Mastitis Incidence in Holstein Dairy Cows 1–13.
- Dhiman, T.R., L.D. Satter, M.W. Pariza, M.P. Galli, K. Albright, and M.X. Tolosa. 2000. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci.* 83:1016–1027. doi:10.3168/jds.S0022-0302(00)74966-6.
- Duarte, L.M.D.A.D., W.S. Júnior, V. Fischer, and L.E. Salla. 2005. Effects of different dietary fat sources on intake and milk yield and composition of Jersey cows. *Rev. Bras. Zootec.* 34:2020–2028. doi:10.1590/s1516-35982005000600027.

- Fagan, E.P., C.C. Jobim, G.T. Dos Santos, M.C. Júnior, and M.S. Da Silva. 2010. Environmental and handling factors on the chemical composition of milk in dairy farms of Paraná State, Brazil. *Acta Sci. - Anim. Sci.* 32:309–316. doi:10.4025/actascianimsci.v32i3.8570.
- Ferreira, L.C.B. 2010. Respostas fisiológicas e comportamentais de bovinos submetidos a diferentes ofertas de sombra. Univ. Fed. St. Catarina.
- Fraser, A.F. 1980. Comportamiento de los animales de granja. *Acribia* 297p.
- Goularte, S., L. Ítavo, C. Ítavo, A. Dias, M. Morais, G. Santos, and L. Oliveira. 2011. Comportamento ingestivo e digestibilidade de nutrientes em vacas submetidas a diferentes níveis de concentrado. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec* 63:414–422.
- Haygert-Velho, I.M.P. 2007. Produção leiteira e comportamento ingestivo de vacas Jersey em pastagem cultivada de inverno com e sem suplementação. Tese (Doutorado em Zootec. Fed. do Rio Gd. do Sul 67f.
- Herbut, P., S. Angrecka, and J. Walczak. 2018. Environmental parameters to assessing of heat stress in dairy cattle—a review. *Int. J. Biometeorol.* 62:2089–2097. doi:10.1007/s00484-018-1629-9.
- Kazama, R. 2009. Enterolactona e ácidos graxos poli- insaturados no leite de vacas alimentadas 88.
- Leduc, M., M.P. Létourneau-Montminy, R. Gervais, and P.Y. Chouinard. 2017. Effect of dietary flax seed and oil on milk yield, gross composition, and fatty acid profile in dairy cows: A meta-analysis and meta-regression. *J. Dairy Sci.* 100:8906–8927. doi:10.3168/jds.2017-12637.
- Leite, L.C. 2006. Perfil de ácidos graxos do leite e metabolismo de lipídios no rúmen de vacas recebendo dietas com alto e baixo teor de concentrado e óleo de soja ou peixe. Univ. São Paulo.
- Leiva, E., M.B. Hall, and H.H. Van Horn. 2000. Performance of dairy cattle fed citrus pulp or corn products as sources of neutral detergent-soluble carbohydrates. *J. Dairy Sci.* 83:2866–2875. doi:10.3168/jds.S0022-0302(00)75187-3.
- Livingstone, K.M., D.J. Humphries, P. Kirton, K.E. Kliem, D.I. Givens, and C.K. Reynolds. 2015. Effects of forage type and extruded linseed supplementation on methane production and milk fatty acid composition of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98:4000–4011. doi:10.3168/jds.2014-8987.
- Maia, F. J., Branco, A. F., Mouro, G. F., Coneglian, S. M., Santos, G. T. D., Minella, T. F., & Guimarães, K. C. 2006. Inclusão de fontes de óleo na dieta de cabras em lactação:

- produção, composição e perfil dos ácidos graxos do leite. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35, 1504-1513.
- Martello, L.S., H.S. Júnior, S. da L. e Silva, and E.A.L. Titto. 2004. Respostas Fisiológicas e Produtivas de Vacas Holandesas em Lactação Submetidas a Diferentes Ambientes. *Rev. Bras. Saude e Prod. Anim.* 33:181–191. doi:10.1590/S1519-99402013000300016.
- Mckenzie, J., and R.N. Goldman. 1999. *The Student Edition of Minitab for Windows Manual: Release 12.*
- Meignan, T., C. Lechartier, G. Chesneau, and N. Bareille. 2017. Effects of feeding extruded linseed on production performance and milk fatty acid profile in dairy cows: A meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 100:4394–4408. doi:10.3168/jds.2016-11850.
- Miglior, F., A. Fleming, F. Malchiodi, L.F. Brito, P. Martin, and C.F. Baes. 2017. A 100-Year Review: Identification and genetic selection of economically important traits in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 100:10251–10271. doi:10.3168/jds.2017-12968.
- National Research Council(NRC). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle.* 2001. Washington.
- Oliveira, M.X.S., A.S.V. Palma, B.R. Reis, C.S.R. Franco, A.P.S. Marconi, F.A. Shiozaki, L.G. Reis, M.S.V. Salles, and A.S. Netto. 2021. Inclusion of soybean and linseed oils in the diet of lactating dairy cows makes the milk fatty acid profile nutritionally healthier for the human diet. *PLoS One* 16:1–19. doi:10.1371/journal.pone.0246357.
- Palmquist, D.L., and T.C. Jenkins. 2017. A 100-Year Review: Fat feeding of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100:10061–10077. doi:10.3168/jds.2017-12924.
- Palmquist, D.L., K. Stelwagen, and P.H. Robinson. 2006. Modifying milk composition to increase use of dairy products in healthy diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131:149–153. doi:10.1016/j.anifeedsci.2006.06.011.
- Paschoal, J.J. 2007. Efeito da dieta contendo alta inclusão de soja extrusada e fonte orgânica de selênio sobre a composição, teor de CLA, perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa do leite de vacas Holandesas 42.
- Perfield II, J.W., A.L. Lock, J.M. Griinari, A. Sæbø, P. Delmonte, D.A. Dwyer, and D.E. Bauman. 2007. Trans-9, cis-11 conjugated linoleic acid reduces milk fat synthesis in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:2211–2218. doi:10.3168/jds.2006-745.
- Perissinotto, M., D.J. de Moura, I.J.O. da Silva, and S. V. Matarazzo. 2005. Influência do ambiente no consumo de água de bebida de vacas leiteiras. *Rev. Bras. Eng. Agrícola e Ambient.* 9:289–294. doi:10.1590/s1415-43662005000200022.
- Petit, H. V. 2010. Review: Feed intake, milk production and milk composition of dairy cows fed flaxseed. *Can. J. Anim. Sci.* 90:115–127. doi:10.4141/cjas09040.

- Petit, H. V. 2015. Milk production and composition, milk fatty acid profile, and blood composition of dairy cows fed different proportions of whole flaxseed in the first half of lactation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 205:23–30. doi:10.1016/j.anifeedsci.2015.04.009.
- Pi, Y., L. Ma, K.M. Pierce, H.R. Wang, J.C. Xu, and D.P. Bu. 2019. Rubber seed oil and flaxseed oil supplementation alter digestion, ruminal fermentation and rumen fatty acid profile of dairy cows. *Animal* 13:2811–2820. doi:10.1017/S175173111900137X.
- Polsky, L., and M.A.G. von Keyserlingk. 2017. Invited review: Effects of heat stress on dairy cattle welfare. *J. Dairy Sci.* 100:8645–8657. doi:10.3168/jds.2017-12651.
- Portugal, J.A.B., M.F.A. Pires, and M.C. Durães. 2000. Effect of air temperature and humidity on frequency of feeding, water ingestion and rumination in Holstein cows. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 52.
- Reece, W. 1996. *Fisiologia de animais domésticos*. Roca 351p.
- Rego, O.A., H.J.D. Rosa, P. Portugal, R. Cordeiro, A.E.S. Borba, C.M. Vouzela, and R.J.B. Bessa. 2005. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid, omega-3 and other fatty acids in milk fat from grazing dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 95:27–33. doi:10.1016/j.livprodsci.2004.11.040.
- Rossarolla, G. 2007. Comportamento de vacas leiteiras da raça holandesa em pastagens de milheto com e sem sombra. *Univ. Fed. St. Maria* 45.
- Santos, F.L., R. De Paula Lana, M.T.C. Silva, S.C.C. Brandão, and L.H. Vargas. 2001. Produção e Composição do Leite de Vacas Submetidas a Dietas Contendo Diferentes Níveis e Formas de Suplementação de Lipídios. *Rev. Bras. Zootec.* 30:1376–1380. doi:10.1590/s1516-35982001000500034.
- Souza, S.R.L., I.A. Nääs, S. Karasawa, and C.E.B. Romanini. 2004. Análise do investimento em climatização para bovinos de leite em sistema de alojamento free-stall. *Eng. Agrícola* 24:255–262. doi:10.1590/s0100-69162004000200003.
- Streck, E. V, N. Kampf, R.S.D. Dalmolin, E. Klamt, P.C. do Nascimento, P. Schneider, E. Giasson, and L.F.S. Pinto. 2002. Solos Do Rio Grande Do Sul. *Emater/RS, Porto Alegre*.
- Vilela, D., M.J. Alvim, L.L. de Matos, and J.B. Matioli. 2002. Utilização de gordura protegida durante o terço inicial da lactação de vacas leiteiras em pastagem de coast-cross. *Pesqui. Agropecuária Bras.* 37:1503–1509. doi:10.1590/s0100-204x2002001000019.
- Vizzotto, E.F., V. Fischer, A. Thaler Neto, A.S. Abreu, M.T. Stumpf, D. Werncke, F.A. Schmidt, and C.M. McManus. 2015. Access to shade changes behavioral and physiological attributes of dairy cows during the hot season in the subtropics. *Animal*

9:1559–1566. doi:10.1017/S1751731115000877.

ORCIDS

**Júlia Laize Bandeira Calgaro Lorini**

<https://orcid.org/0000-0002-2064-7376>

**Ione Maria Pereira Haygert Velho**

<https://orcid.org/0000-0002-6709-7340>

**João Pedro Velho**

<https://orcid.org/0000-0003-3901-8200>



#### 4. CONSIDERAÇÕES E SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS

A cadeia produtiva do leite tem papel fundamental no agronegócio brasileiro, sendo uma das mais importantes para a economia e para a geração de emprego. Desta forma, o trabalho apresentado tem relevância para todos os elos da cadeia, desde o produtor de leite até o consumidor final. Pois mostra sugestões de inclusão na dieta para o produtor de leite utilizar em sua propriedade, sendo a linhaça um alimento com alto teor de óleo, capaz de elevar as concentrações de ácidos graxos do leite. O que para o consumidor pode ser uma alternativa de alimento funcional, que já vem se mostrando capaz de reduzir riscos de obesidade e colesterol. De forma geral, pode haver agregação de valor em todas as partes envolvidas na cadeia, do produtor, até a indústria e o consumidor.

A partir da inclusão de fontes lipídicas na dieta das vacas de leite, podemos observar a alteração no perfil dos ácidos graxos do leite. O que pode ser uma alternativa para os produtores, já que boa parte das empresas processadoras de leite pagam bonificação pela composição e qualidade do leite. Os dados utilizados no artigo foram coletados em propriedade localizada na região Noroeste do estado do Rio Grande do Sul, região esta que se destaca pela grande quantidade de leite produzido, sendo no ano de 2019 a maior mesorregião do Brasil no quesito produção de leite.

O estudo ainda traz um assunto de grande importância para a produção de leite, o estresse pelo calor, onde uma quantidade grande de propriedades enfrentam durante o verão nesta região, sendo esta uma das principais causas da sazonalidade na produção de leite. Sabe-se que o animal necessita de dieta balanceada e conforto térmico para expressar seu potencial genético, e o produtor é o responsável por proporcionar estas condições aos animais. Apesar de não haver diferença entre os tratamentos, pode-se observar que os parâmetros fisiológicos sofreram alterações, principalmente nas horas mais quentes do dia.

No entanto, seria importante mais pesquisas relacionadas a esta área, podendo incluir o valor agregado ao produto, incluindo a indústria neste processo. Desta forma, incentivar os produtores através de bonificações pelo leite produzido, aumentando a receita e conseqüentemente a lucratividade da produção, além de produzir um alimento funcional.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, Gledson LP et al. Comportamento, produção e qualidade do leite de vacas Holandês-Gir com climatização no curral. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, p. 892-899, 2013.
- ASSIS, J., FERREIRA, J. D., MARTINS, H. H., & SCHNEIDER, M. B. Cadeia produtiva do leite no Brasil no contexto do comércio internacional. **Revista de Ciências Empresariais da UNIPAR**, 17(1). 2016.
- BACCARIN, J. G.; OLIVEIRA, J. A. Inflação de alimentos no Brasil em período da pandemia da Covid 19, Continuidade e Mudanças. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 28, p. e021002-e021002, 2021.
- BIANCHI, Anderson Elias et al. Effect of the addition of protected fat from palm oil to the diet of dairy sheep. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 47, 2018.
- BRASIL, 2018. Instrução Normativa nº76, de 26 de novembro de 2018. Brasília: **Diário Oficial da União** 1, 9–10.
- BURIN, P. C. Quality of fat sheep: characteristics and influence factors. **Rev. Electrón. vet.** v17, n. 10, p 1-28. 2016.
- BUSANELLO, Marcos et al. Estimation of prevalence and incidence of subclinical mastitis in a large population of Brazilian dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 8, p. 6545-6553, 2017.
- BUSANELLO, Marcos et al. Relationship between seasonal variation in the composition of bulk tank milk and payment based on milk quality. **Slovak Journal of Animal Science**, v. 53, n. 03, p. 132-144, 2020.
- CALGARO, Júlia Laize Bandeira et al. Production and composition of milk per Holstein and Jersey cow from two farms in northwest Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 21, 2020.
- CARABANO, Maria-Jesus et al. Modeling heat stress under different environmental conditions. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 5, p. 3798-3814, 2016.
- CARDOZO, L. et al. Estabilidade oxidativa e perfil de ácidos graxos do leite de vacas suplementadas com óleo de linhaça na dieta associado ou não ao selenito de sódio injetável. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, p. 826-832, 2013.
- CAVALIERI, F. B. et al. Milk production and milk composition of dairy cows fed Lac100® or whole flaxseed. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 85, n. 3, p. 413-416, 2005.
- COLDEBELLA, Arlei et al. Contagem de células somáticas e produção de leite em vacas holandesas confinadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 623-634, 2004.
- COUTO, Andréia Terzariol. Agricultura familiar e produção leiteira: Análise do setor cooperativo leiteiro da região norte de Portugal e do setor familiar produtor de leite no sul do Brasil. **Boletim Goiano de Geografia**, v. 23, n. 2, p. 153-172, 2003.

CUNHA, R. P. L. et al. Mastite subclínica e relação da contagem de células somáticas com número de lactações, produção e composição química do leite em vacas da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 19-24, 2008.

CHILLIARD, Yves et al. Milk fatty acids in dairy cows fed whole crude linseed, extruded linseed, or linseed oil, and their relationship with methane output. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 10, p. 5199-5211, 2009.

CHOUINARD, P. Y. et al. Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 3, p. 680-690, 2001.

DA SILVA, Iran JO et al. Efeitos da climatização do curral de espera na produção de leite de vacas holandesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 2036-2042, 2002.

DAL PIZZOL, Jean Gabriel et al. Contagem de células somáticas em vacas da raça holandesa e mestiças Holandês x Jersey. **Archives of Veterinary Science**, v. 19, n. 1, 2014.

DALTRO, Andressa Machado et al. Efeito do estresse térmico por calor na produção de vacas leiteiras. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 26, n. 1, p. 288-311, 2020.

DAMASCENO, Júlio Cesar; BACCARI JÚNIOR, Flávio; TARGA, Luiz Antonio. Respostas comportamentais de vacas holandesas, com acesso à sombra constante ou limitada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 709-715, 1999.

DE OLIVEIRA GOBBI, Wanderléia Aparecida; PESSÔA, Vera Lúcia Salazar. A pecuária leiteira e a agricultura familiar em Ituiutaba (MG): as transformações na comunidade da canoa. **Geo UERJ**, v. 1, n. 19, p. 79-110, 2009.

DOREAU, Michel; CHILLIARD, Yves. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. **British Journal of Nutrition**, v. 78, n. 1, p. S15-S35, 1997.

DOREAU, Michel; FERLAY, Anne. Linseed: a valuable feedstuff for ruminants. **OCL Oilseeds and Fats Crops and Lipids**, v. 22, n. 6, p. 9 p., 2015.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Anuário Leite 2021. 2021.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Gado do Leite – Importância Econômica. Disponível em <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/LeiteCerrado/importancia.html>> Acesso em 07 out 2021.

FUKE, Gitane; NORBERG, José Laerte. Systematic evaluation on the effectiveness of conjugated linoleic acid in human health. **Critical Reviews in Food Science And Nutrition**, v. 57, n. 1, p. 1-7, 2017.

GARCIA, Alejandra Barrera et al. Relationships between heat stress and metabolic and milk parameters in dairy cows in southern Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 47, n. 5, p. 889-894, 2015.

GONZALEZ, H. D. L., FISCHER, V., RIBEIRO, M. E. R., GOMES, J. F., STUMPF JR, W., & SILVA, M. A. D. Avaliação da qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas, RS. Efeito dos meses do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 1531-1543, 2004.

HASSANAT, F.; BENCHAAAR, C. Corn silage-based diet supplemented with increasing amounts of linseed oil: Effects on methane production, rumen fermentation, nutrient digestibility, nitrogen utilization, and milk production of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 5, p. 5375-5390, 2021.

IBGE. Instituto brasileiro de geografia e estatística. Pesquisa da Pecuária Municipal e Censo Agropecuário. **Pesquisa trimestral 2016**. Disponível em [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br). Acesso: 06 de outubro de 2021.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Agropecuário, 2017.

INAL, Fatma et al. A comparison of different analysis methods for milk urea nitrogen. **Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.**, v. 21, n. 5, p. 767-772, 2015.

KANIKOWSKA, Dominika et al. Flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) supplementation in patients undergoing lipoprotein apheresis for severe hyperlipidemia—A pilot study. **Nutrients**, v. 12, n. 4, p. 1137, 2020.

KEKANA, Thapelo W. et al. Milk production and blood metabolites of dairy cattle as influenced by thermal-humidity index. **Tropical Animal Health and Production**, v. 50, n. 4, p. 921-924, 2018.

LEME, Tania Mara Soares Paes et al. Comportamento de vacas mestiças Holandês x Zebu, em pastagem de *Brachiaria decumbens* em sistema silvipastoril. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, p. 668-675, 2005.

MARTIN, C.; FERLAY, A.; MOSONI, P.; ROCHETTE, Y.; CHILLIARD, Y.; DOREAU, M. Increasing linseed supply in dairy cow diets based on hay or corn silage: Effect on enteric methane emission, rumen microbial fermentation, and digestion. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 99, n. 5, p. 3445-3456, 2016. DOI: 10.3168/jds.2015-10110

NIENABER, John A.; HAHN, G. LeRoy; EIGENBERG, R. A. Engineering and management practices to ameliorate livestock heat stress. In: **Proceedings, International Symposium of The CIGR**. New Trends In Farm Buildings, Lecture. 2004. p. 1-18.

NORO, Giovanni et al. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 1129-1135, 2006.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of dairy cattle**. Seventh revised edition, Washington D.C.: National Academy Press, 2001. 360p.

PAIXÃO, Marcel Gomes et al. Impacto econômico da implantação das boas práticas agropecuárias relacionadas com a qualidade do leite. **Revista Ceres**, v. 61, p. 612-621, 2014.

PAŠIĆ, Vedat et al. The impact of changes in the milk payment system and season on the hygienic quality of milk. **Journal of Central European Agriculture**, 2016.

PETIT, H. V. Feed intake, milk production and milk composition of dairy cows fed flaxseed. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 90, n. 2, p. 115-127, 2010.

POLSKY, Liam; VON KEYSERLINGK, Marina AG. Invited review: Effects of heat stress on dairy cattle welfare. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 11, p. 8645-8657, 2017.

RAGAZZI, Fernanda Giácomo et al. Análise da variação estacional na produção de leite nas diferentes bacias leiteiras no Brasil. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 4, n. 1, p. 976-988, 2021.

RICCI, Gisele Dela; ORSI, Alessandra Módena; DOMINGUES, Paulo Francisco. Estresse calórico e suas interferências no ciclo de produção de vacas de leite: revisão. **Veterinária e Zootecnia**, p. 9-18, 2013.

SCHÜLLER, L.-K.; BURFEIND, O.; HEUWIESER, W. Effect of short-and long-term heat stress on the conception risk of dairy cows under natural service and artificial insemination breeding programs. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 4, p. 2996-3002, 2016.

SICHESKI, Sirineu José et al. Longitudinal retrospective study on the effect of season on milk production and composition in Rio Grande do Sul, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 41, n. 4, p. 1355-1372, 2020.

SOARES, Lavínia Leal et al. Avaliação dos efeitos da semente de linhaça quando utilizada como fonte de proteína nas fases de crescimento e manutenção em ratos. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 4, p. 483-491, 2009.

SOUZA, Juliana Salies et al. AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SAZONALIDADE NA PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO LEITE DE VACAS JERSEY. **Revista Científica Rural**, v. 20, n. 2, p. 314-325, 2018.

STÜRMER, Morgana et al. Relationship between climatic variables and the variation in bulk tank milk composition using canonical correlation analysis. **International Journal of Biometeorology**, v. 62, n. 9, p. 1663-1674, 2018.

VIANA, J. G. A., ZEN, B., KARLEC, F., & SOUZA, R. S. D. Comportamento dos preços históricos do leite no Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 2, p. 451-460, 2010.

VILELA, Reíssa A. et al. Respostas fisiológicas e comportamentais de vacas Holandesas mantidas em sistema adiabático evaporativo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 1379-1384, 2013.

VILELA, D., RESENDE, J. C. D., LEITE, J. B., & ALVES, E. A evolução do leite no Brasil em cinco décadas. **Revista de Política Agrícola**, v. 26, n. 1, p. 5-24, 2017.

WEBER, Carol Thaís et al. Season effects on the composition of milk produced by a Holstein herd managed under semi-confinement followed by compost bedded dairy barn management. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 41, n. 5, p. 1667-1678, 2020.

WU, Shufen et al. Bioactive protein/peptides of flaxseed: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 92, p. 184-193, 2019.

ZATTA, Marcelo Rodrigo et al. Suplementação com gordura protegida de óleo de palma na alimentação de vacas leiteiras. **REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria**, v. 18, n. 9, p. 1-13, 2017.

## ANEXO A – NORMAS PARA SUBMISSÃO NO JOURNAL OF DAIRY SCIENCE

J. Dairy Sci. 104:Instructions 1–12

© American Dairy Science Association<sup>®</sup>, 2021



### *Journal of Dairy Science*<sup>®</sup> Instructions to Authors: Style and Form<sup>1</sup>

#### Journal Policies and Procedures

The American Dairy Science Association<sup>®</sup> (ADSA<sup>®</sup>) invites scientists from the global community to submit papers for consideration to the *Journal of Dairy Science* (JDS). Authors need not be members of ADSA. These instructions detail editorial policies and style and form for publishing in JDS. We recommend that authors refer to these instructions, as well as the **Instructions to Authors: Policies**, during submission, peer review, acceptance, proof correction, and final publication phases.

#### Contact Information for Journal Staff

For information on the scientific content of the journal, contact the editor-in-chief, Dr. Paul J. Kononoff; phone: 402-472-6442; e-mail: [pkononoff2@unl.edu](mailto:pkononoff2@unl.edu).

For assistance with Scholar One (Manuscript Central) and Manuscript Submission/Copyright forms, contact Shauna Miller, editorial assistant, Headquarters Office, 1800 S. Oak St., Suite 100, Champaign, IL 61820; phone (217) 239-3339; fax (217) 378-4083;

[shaunam@assoqh.org](mailto:shaunam@assoqh.org).

For questions about manuscript preparation, journal style and form, and proofs, contact Louise Adam, lead technical editor, at [loua@assoqh.org](mailto:loua@assoqh.org) or [journals@assoqh.org](mailto:journals@assoqh.org).

For other information, contact Susan Pollock, managing editor, Headquarters Office, American Dairy Science Association, 1800 S. Oak St., Suite 100, Champaign, IL 61820; phone (217) 356-7641; [susanp@assoqh.org](mailto:susanp@assoqh.org) or [journals@assoqh.org](mailto:journals@assoqh.org).

#### Aims and Scope

The *Journal of Dairy Science* publishes original research, invited review articles, and other scholarly work that relates to the production and processing of milk or milk

products intended for human consumption. The journal is broadly divided into dairy foods and dairy production sections. Please refer to the complete [Aims and Scope](#) online for more detailed information of suitable topics for the *Journal of Dairy Science*.

#### Dairy Foods Sections

Bioactivity and Human Health

Chemistry and Materials Science

Dairy Product Microbiology and Safety

Food Systems and Environment

Processing and Engineering

Sensory Analysis

#### Dairy Production Sections

Animal Nutrition

Farm Systems and Environment

Genetics and Genomics

Health, Behavior, and Well-being

Physiology

In addition to the above sections, interpretive applied summaries and recommendations may be submitted to the Dairy Industry Today section. Syntheses and applications from technical reports that contribute to solutions to problems in the dairy industry are especially solicited. Authors of reports for extension education of the nonscientist are encouraged to share their contributions with colleagues and to achieve wider circulation of their conclusions and recommendations through this section. In addition, papers that report on advances in teaching and outreach techniques are suitable for this section.

#### Types of Articles

**Full-Length Research Papers.** The majority of papers published in JDS are full-length research articles, which includes systematic reviews and meta-analyses. The journal emphasizes the importance of high-quality scientific writing and clarity in presentation of the concepts and methods, and sufficient background information that would be required for thorough understanding by scientists in other disciplines. The results published must be replicated, either by replicating treatments within experiments



or by repeating experiments. Studies using commercial products should address a hypothesis-based question relevant to the biology or mechanism of action of the product.

In addition to full-length research papers, the following types of articles appear in the journal:

***Invited Reviews.*** The journal publishes invited reviews in all scientific sections of the journal. Authors interested in writing a review should contact the Invited Reviews editor, Kerst Stelwagen ([kerst.stelwagen@scilactis.co.nz](mailto:kerst.stelwagen@scilactis.co.nz)) with justification for the review. Ultimately, the invitation for submissions and overseeing of the peer-review process are the responsibility of the Invited Reviews editor; authors should not submit an Invited Review without first receiving an invitation letter. The Invited Reviews editor may also solicit reviews on topics of interest. The first 10 printed pages of an invited review are published at no cost to the author. The journal does not publish unsolicited reviews.

***Symposium Reviews.*** The editor-in-chief invites selected topics from the ADSA annual meeting program to be published in the journal. Symposium reviews must be prepared according to JDS Style and Form and submitted to the appropriate scientific section (not as invited reviews). These papers will undergo the same review and editing process as other papers submitted to the journal. The first 5 pages of a symposium review are published at no cost to the author.

***Graduate Student Literature Reviews.*** Graduate students may submit their literature reviews (as Grad Student Lit Review) to be evaluated by the journal for publication as review papers. Papers must be prepared according to JDS Style and Form, contain no more than 30 double-spaced pages and 75 references, and be submitted to the appropriate scientific section of the journal (not as invited reviews). Students submitting papers should note in the cover letter that the paper is a graduate student literature review, that they are competing for the Graduate Student Literature Review Award and indicate the category in which they are competing (PhD Production Division, MS Production Division, PhD Dairy Foods Division, MS Dairy Foods Division). A full description of the award can be found on the ADSA website (<https://www.adsa.org/Member-ship/ADSAAwards.aspx>).

***Letters to the Editor.*** Short (300 words) letters to the editor on topics of concern to readers, including comment on publications with rebuttals from authors if needed, may be submitted to the editor-in-chief or to any of the editors. Letters will be published at the discretion of the editor-in-chief. Authors of letters are subject to the same

copyright release requirements as other authors. Letters are published at no charge to the author(s).

## MANUSCRIPT PREPARATION

### Reporting Guidelines

The *Journal of Dairy Science* requires the submission of an appropriate reporting guideline checklist with each paper. This is a widespread practice and common requirement in leading scientific and medical journals. Reporting guidelines help to ensure complete and accurate reporting of a study, which contributes to reproducibility and allows for critical appraisal of the work, as well as eventual inclusion of the study in systematic reviews and meta-analyses. Reporting guidelines do not prescribe study design or analysis but have been shown to improve the clarity and completeness of reporting. The requirement for the use of reporting guidelines begins January 1, 2021. More information on the policy and its implementation can be found here: <https://www.journalofdairyscience.org/content/inst-auth>.

### Writing Style

Papers must be written in English. The text and supporting materials must use US spelling and usage as given in *Merriam-Webster's Collegiate Dictionary*, 11th ed., *Webster's Third International Dictionary*, or the *New Oxford American English Dictionary*, 3rd ed. Today, most medical and scientific style manuals support the active over the passive voice. Use of the active voice results in lively, clear, and concise writing. Passive voice may still be appropriate in the Materials and Methods section, for example, where the actor is unimportant and the writer wishes to focus on the action or the recipient of the action. The active voice and first-person pronouns (I, we) should be used when appropriate in the Results, Discussion, and Conclusions sections.

For scientific conventions, authors should follow the style and form recommended in *Scientific Style and Format: The CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers*, 8th ed., published by the Council of Science Editors in cooperation with University of Chicago Press ([www.scientificstyleandformat.org/](http://www.scientificstyleandformat.org/)).

### Preparing the Manuscript File

To facilitate peer review, lines and pages should be numbered consecutively. Special characters (e.g., Greek, math, symbols) should be inserted using the symbols

palette. Complex math should be entered using MathType from Design Science/Wiris (<https://store.wiris.com/en>). Equations and math must be editable. Tables and figures should be placed in separate sections at the end of the manuscript (not placed within the text). Failure to follow these instructions may result in immediate rejection of the manuscript.

#### Interpretive Summary

All authors of JDS papers should provide an interpretive summary of 100 words or less that summarizes the project's expected importance or its economic, environmental, and/or social impact. The summary should appear at the top of the first page of the manuscript. Interpretive summaries will be peer reviewed. The summaries are intended for an audience who may not be familiar with work in the authors' area of expertise and for government or media researchers, and they will provide JDS readers with a brief overview of the research presented in each issue.

#### Graphical Abstract and Highlights

The journal now accepts graphical abstracts for inclusion in the online version of the journal. Graphical abstracts are not required, but, if submitted, will undergo peer review. A graphical abstract is a single, concise visual summary of the main finding of the article. It should allow readers to quickly understand the main take-home message of the paper. The graphical abstract should include article highlights, which are 3 to 5 bullet points (maximum of 85 characters each, including spaces) aimed at a general audience. Highlights serve as a caption for the graphical abstract and should summarize the main findings of your research and capture the novelty of your results. Avoid technical jargon and abbreviations but use key words that will aid in the discoverability of your research. The graphical abstract and highlights should be placed into one document and uploaded as a separate file from the main text in ScholarOne.

Technical specifications and other guidance for preparing for graphical abstracts can be found here: <https://www.elsevier.com/authors/journal-authors/graphical-abstract>.

#### Headings

**Major Headings.** Major headings consist of Abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion (or Results and Discussion), Conclusions (optional), Acknowledgments, Appendix (optional), and References.

## Title Page

Across the top of the title page (first page), indicate a running head (abbreviated title) of no more than 45 characters.

A descriptive title—one that describes the subject of the article but does not reveal the main conclusions—should be used. The title should be short and informative and contain words or phrases used for indexing.

Under the title, names of authors should be given in mixed case (e.g., T. E. Smith or Tom E. Smith). Institutional addresses are displayed below the author names; footnotes referring from author names to displayed addresses should be numerals, in order from first to last author. The full name, mailing address, phone number, and e-mail address of the corresponding author should appear directly below the affiliation lines on the title page. The corresponding author will be identified by a footnote symbol and e-mail address below the accepted line on the first page of the published article (e.g., \*Corresponding author: [my.name@university.edu](mailto:my.name@university.edu)). Supplementary address information may be given in footnotes to the first page; use symbols for all title page footnotes. Acceptable format is shown below:

**J. E. Smith,<sup>1</sup> R. A. Jones,<sup>2</sup> and A. T. Peters<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Department of Dairy Science, University of Wisconsin, Madison 53706

<sup>2</sup>Department of Animal Science, Cornell University, Ithaca, NY 14853

Every author listed on the title page must have an account in ScholarOne that is linked to the manuscript submission.

**ORCIDs.** The corresponding (submitting) author of each manuscript is required to have an ORCID (<https://orcid.org/>) linked to their ScholarOne account. Co-authors *may* also have ORCIDs. ORCIDs that are present in the peer-review system when a manuscript is accepted for publication will be published on the manuscript. Late additions of ORCIDs cannot be published.

**Abstract.** The abstract should review important objectives, materials, results, conclusions, and applications as concisely as possible. Limit the use of abbreviations in the Abstract. Minimize the amount of data in the abstract and exclude statements of statistical probability (e.g.,  $P < 0.05$ ). Exclude references to other works.

**Key Words.** After the abstract, list 2 to 5 key words or phrases.

## Abbreviations

Author-derived abbreviations should be defined at first use in the abstract and again in the body of the manuscript, and in each table and figure in which they are used. Author-derived abbreviations will be shown in bold type at first use in the body of the manuscript. Refer to the “Miscellaneous Usage Notes” on page 9 for more information on abbreviations.

### Body of the Paper

The body of the paper should contain an introduction to the problem (questions, objectives, reasons for research, and related literature); materials, methods, experimental design, and procedures; and results, discussion, conclusions, and applications.

The introduction should concisely describe the rationale for conducting the study, background, objectives, and hypotheses to be tested.

Results and Discussion may be combined into a single section. If not, the Results section should not contain discussion of previously published work. Results and references to tables and figures already described in the results section should not be repeated in the Discussion. The Discussion should begin with a brief summary of the paper. An optional separate conclusions section may follow the discussion. The conclusion section should consist of **one brief paragraph** that specifically states the main conclusions from the study. As such, it should not contain references to other works.

### Appendix

A technical appendix may follow the References section. The appendix may contain explanations and elaborations that are not essential to other sections but are helpful to the reader. Novel computer programs or mathematical computations would be appropriate. The appendix is not to be a repository for raw data.

### Supplemental Material

Large data sets and other materials or data supplements that are not central to the paper should be placed in a repository and cited in the references section. This allows authors to maintain control over those files and to retain copyright of their supplementary files. Most university libraries can host these deposits or authors may choose among general repositories available, such as figshare: <https://figshare.com/> Harvard

Dataverse: <https://dataverse.harvard.edu/> Open Science Framework: <https://osf.io/>  
 Mendeley Data: <https://data.mendeley.com/>Zenodo: <https://zenodo.org/>

## References

List only pertinent references. No more than 3 refer- ences should be needed to support a specific concept. Research papers and reviews should cite a reasonable number of references. Abstracts and articles from non-

peer-reviewed magazines and proceedings should be cited sparingly.

**Citations in Text.** In the body of the manuscript, refer to authors as Smith and Jones (1992) or Smith and Jones (1990, 1992). Work that has not been ac- cepted for publication should be listed in the text as follows: “J. E. Jones (institution, city, and state, per- sonal communication).” Personal communications and unpublished data must not be included in the refer- ences section.

**References Section.** To be listed in the references section, papers must be published or accepted for pub- lication. Manuscripts submitted for publication but not yet accepted can be cited as “unpublished data” in the text. Journals should be abbreviated according to the conventional ISO abbreviations used by PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>).

For **journal** articles, include all authors (do not use “et al.”), year, article title, abbreviated journal name, volume, page range, and digital object identifier (DOI). Inclusive page numbers (or article identifiers) must be provided and the DOI included if available.

Hyde, M. L., M. R. Wilkens, and D. R. Fraser. 2019. In vivo measurement of strontium absorption from the rumen of dairy cows as an index of calcium absorption capacity. *J. Dairy Sci.* 102:5699–5705. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16052>.

For **book** references, include authors, year, chapter or section title, page range, book title, edition, book edi- tors (if applicable), and publisher name and location.

Huber, J. T. 1996. Amelioration of heat stress in dairy cattle. Pages 211–243 in *Progress in Dairy Science*. C. J. C. Philips, ed. CAB International, Wallingford, UK.

For **conference proceedings**, include authors, year, abstract title, page number or abstract number, proceedings title, location of meeting, and name and location of proceedings publisher.

Van Amburgh, M. E., T. R. Overton, L. E. Chase, D. A. Ross and E. B. Recktenwald. 2009. The Cornell net carbohydrate and protein system: Current and future approaches for balancing of amino acids. Pages 28–37 in Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf. Cornell Univ., Ithaca, NY.

For **abstracts presented at ADSA or joint annual meetings**, cite as a journal article but include the journal supplement number and the page of the supplement on which the abstract appeared. Include “(Abstr.)” at the end of the citation.

Vieira-Neto, A., I. M. R. Leao, J. G. Prim, R. Zimpel, K. V. de Almeida, M. M. Nehme, J. Bollatti, A. C. M. Silva, A. Revilla-Ruiz, C. D. Nelson, and J. E. P. Santos. 2019. Effect of duration of exposure to diets differing in DCAD on calcium metabolism after a parathyroid hormone challenge in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 102(Suppl. 1):15. (Abstr.)

For **patents**, provide names of inventors, year, title, name of assignee, and US or other patent number.

Biernoth, G., and W. Merk, inventors. 1985. Fractionation of milk fat using a liquified gas or a gas in the supercritical state. Unilever NV-PLC, assignee. US Pat. No. 4,504,503.

For **theses**, provide author, year, title, thesis type (PhD, MS, DVM), department name, and university name and location.

Kelly, M. G. 1977. Genetic parameters of growth in purebred and crossbred dairy cattle. MS Thesis. Department of Animal Science, North Carolina State Univ., Raleigh.

For **websites**, provide authors (or organization name), year, page title, date accessed (in month, day, year format), and URL.

USDA. 2018. Milk Cost-of-Production Estimates-2016 Base. Accessed Feb. 10, 2018. [https://www.ers.usda.gov/data-products/milk-cost-of-production-estimates/milk-cost-of-production-estimates/#MilkCost-of-Production\\_Estimates-2016\\_Base](https://www.ers.usda.gov/data-products/milk-cost-of-production-estimates/milk-cost-of-production-estimates/#MilkCost-of-Production_Estimates-2016_Base).

Tables should be self-explanatory and understandable without excessive reference to the text. The table shown below may be used as an example.

**Tables must be prepared using the table feature in Microsoft Word.** When possible, tables should be organized to fit across the page without running landscape. Be aware of the dimensions of the standard page size (8.5 × 11 in) when planning tables (use of more than 15 columns may create layout problems).

The table title should describe concisely the data shown; it does not require an ending period. Do not use vertical rules and use few horizontal rules. **Bold and italic typefaces should not be used in tables.** Limit the data field to the minimum needed for meaningful comparison within the accuracy of the methods.

Abbreviations should conform to journal style and be consistent with those used in the text.

For differences among means within a row or column, superscript letters should be used as appropriate sequentially (e.g., a, ab, b, c, cd) consistently from largest to smallest means and defined in the footnote. Informational footnotes should be numbered and each footnote should begin a new line (see sample table).

**Table 4.** Effects of dietary protein supplement sources and forage source ratio on nutrient digestibility and N excretion of lactating dairy cows Diet<sup>1,2</sup>

Item	SBM		CM		SBM		CM		SEM	PS	FS	PS × FS
N intake, g/d	604	601	605	611	581	600	11.5	0.39	0.27	0.58		
Urine volume, L/d	40.7	42.9	41.6	39.3	35.3	34.5	2.2	0.80	<0.01	0.43		
Urinary excretion												
Total N, g/d	245	242	259	244	254	236	7.6	0.05	0.30	0.65		
Total N, % of N intake	40.9	39.7	43.1	40.1	44.0	39.8	1.5	0.05	0.30	0.65		
Urea N, g/d	198	194	199	188	195	179	6.0	<0.01	0.24	0.56		
Urea N, % of total urinary N intake	82.3	83.1	78.6	76.6	78.0	77.2	2.0	0.24	0.08	0.79		
Urea N, % of N intake	32.9	31.9	33.3	30.8	33.9	30.4	1.1	<0.01	0.98	0.33		
Fecal excretion												
N, g/d	182	197	189	185	179	171	5.5	0.72	0.02	0.08		
N, % of N intake	30.1	32.8	31.1	29.9	31.1	28.7	0.6	0.59	0.04	<0.01		
Apparent digestibility, %												
DM	71.0 <sup>a</sup>	68.3 <sup>c</sup>	69.6 <sup>b</sup>	69.8 <sup>b</sup>	70.1 <sup>ab</sup>	71.3 <sup>a</sup>	0.44	0.23	0.04	<0.01		
OM	70.4 <sup>a</sup>	67.2 <sup>c</sup>	68.7 <sup>b</sup>	68.9 <sup>b</sup>	69.4 <sup>ab</sup>	70.1 <sup>a</sup>	0.46	0.06	0.09	<0.01		
CP	69.9 <sup>ab</sup>	67.2 <sup>c</sup>	68.9 <sup>b</sup>	70.1 <sup>ab</sup>	68.9 <sup>b</sup>	71.3 <sup>a</sup>	0.64	0.59	0.04	<0.01		
NDF	51.9 <sup>a</sup>	45.3 <sup>c</sup>	48.5 <sup>b</sup>	47.2 <sup>b</sup>	51.1 <sup>a</sup>	51.2 <sup>a</sup>	0.74	<0.01	<0.01	<0.01		



<sup>a-c</sup>Mean values in the same row with different superscripts differ ( $P < 0.01$ ) for the interaction between forage source and protein supplement.

<sup>1</sup>Forage sources in different proportions: HAS = high alfalfa silage, 50% alfalfa silage and 10% corn silage; MAS = medium alfalfa silage, 30% alfalfa silage and 30% corn silage; LAS = low alfalfa silage, 10% alfalfa silage and 50% corn silage.

<sup>2</sup>Protein supplement: SBM = soybean meal, CM = canola meal.

<sup>3</sup>Probability of treatment effects: PS = effects of protein supplement, SBM vs. CM diets; FS = effect of forage sources in different proportions; PS  $\times$  FS = interaction between protein and forage source.

#### Figures

To facilitate review, figures should be placed at the end of the manuscript, with each caption appearing on the same page as the corresponding figure.

**Figure size.** Prepare figures at final size for publication. Figures should be prepared to fit one column (8.9 cm wide), 2 columns (14 cm wide), or full-page width (19 cm wide).

**Font size.** Ensure that all type within the figure and axis labels is readable at final publication size. A minimum type size of 8 points (after reduction to publication size) should be used. The font size should be proportional to the overall size of the figure (within a range of 8 to 12 points at final publication size).

**Fonts.** For best readability, use Helvetica, Times New Roman, Arial, and the symbols palette within those fonts to annotate and label figures (for data points, axis descriptors, units, legends).

**Line weight.** For line graphs, use a minimum stroke weight of 1 point for all lines. Use solid, long-dash, short-dash, and dotted lines to distinguish line types. Avoid the use of gray lines, as these will not reproduce well. Lines with different symbols for the data points may also be used to distinguish curves. Axes and ticks should be in black (not gray) with a thickness of at least 1 point.

**Axis labels.** Each axis should have a descriptor and a unit. Units may be separated from the descriptor by a comma or parentheses.

**Shading and fill patterns.** With the elimination of print in 2019, full color can be used in all figures at no additional charge. Complex patterns and 3-dimensional

effects reproduce poorly and should not be used. Unnecessary backgrounds and grid lines should be removed from graphs.

**Symbols.** Identify curves and data points using the following symbols only: □, ■, ○, ●, ▲, ▼, +, or □. Symbols should be defined in the figure caption or in a key on the figure (but not both).

**File formats.** Figures can be submitted in PDF, EPS, TIFF, and JPEG formats or pasted into Microsoft Word. Note that pasting into Word often reduces figure quality. Authors may upload high-resolution figures (preferably as TIFFs) in addition to the figures pasted into Word for review.

**Color and grayscale figures.** Color figures should be prepared and submitted in RGB (not CMYK). Figures that are to be published in grayscale (black and white) should be submitted in grayscale because color may mask contrast problems that are apparent only when the figure is reproduced in grayscale.

**Resolution. Minimum resolution is 600 dpi for grayscale and color figures, and 1,200 dpi for line art.** Submitting figures that do not meet these requirements may delay publication of your article.

**Photomicrographs.** Photomicrographs must have their unmagnified size designated with a scale bar on the figure. Reduction for publication can make a magnification power designation (e.g., 100×) inappropriate.

**Captions.** The caption should provide sufficient information that the figure can be understood without excessive reference to the text. All author-derived abbreviations and symbols used in the figure should be defined in the caption.

**General tips.** Do not use three-dimensional bar charts unless essential to the presentation of the data. Use color or the simplest grayscale shading scheme possible to present the data clearly. Ensure that data, symbols, axis labels, lines, and key are clear and easily readable at final publication size.

**Color charges.** There is no charge for color figures.

#### Statistical Analysis

Biology should be emphasized, but the use of incorrect or inadequate statistical methods to analyze and interpret biological data is not acceptable. Consultation with a statistician is recommended. Statistical methods commonly used in the animal sciences need not be described in detail, but adequate references should be provided. The statistical model, classes, blocks, and experimental unit must be

designated. Any restrictions used in estimating parameters should be defined. Reference to a statistical package without reporting the sources of variation (classes) and other salient features of the analysis, such as covariance or orthogonal contrasts, is not sufficient. A statement of the results of statistical analysis should justify the interpretations and conclusions. When possible, results of similar experiments should be pooled statistically. Do not report a number of similar experiments separately.

**Experimental Unit.** The experimental unit is the smallest unit to which an individual treatment is imposed. For group-fed animals, the group of animals in the pen or the paddock is the experimental unit; therefore, groups must be replicated. Repeated chemical analyses of the same sample usually do not constitute independent experimental units. Measurements on the same experimental unit over time also are not independent and must not be considered as independent experimental units. For analysis of time effects, use time-sequence analysis.

Usual assumptions are that errors in the statistical models are normally and independently distributed with constant variance. Most standard methods are robust to deviations from these assumptions, but occasionally data transformations or other techniques are helpful. Most statistical procedures are based on the assumption that experimental units have been assigned to treatments at random. If animals are stratified by ancestry or weight or if some other initial measurement should be accounted for, the model should include a blocking factor, or the initial measurement should be included as a covariate.

A parameter [mean ( $\mu$ ), variance ( $\sigma^2$ )], which defines or describes a population, is estimated by a statistic (mean,  $s^2$ ). The term *parameter* is not appropriate to describe a variable, observation, trait, characteristic, or measurement taken in an experiment.

**Experimental Design.** Standard designs are adequately described by name and size (e.g., “a randomized complete block design with 6 treatments in 5 blocks”). For a factorial set of treatments, an adequate description might be as follows: “Tryptophan at 0.05 or 0.10% of the diet and niacin at 5, 10, or 20 mg/kg of diet were used in a 2  $\times$  3 factorial arrangement in 5 randomized complete blocks, each block consisting of littermates.” Note that a factorial arrangement is not a design; the term “design” refers to the method of grouping experimental units into homogeneous groups or blocks (i.e., the way in which the randomization is restricted).

**Variability.** Standard deviation refers to the variability in a sample or a population. The standard error (calculated from error variance) is the estimated sampling error of a statistic such as the sample mean. When a standard deviation or standard error is given, the number of degrees of freedom on which it rests should be specified. When any statistical value (as mean or difference of 2 means) is mentioned, its standard error or confidence limit should be given. The fact that differences are not “statistically significant” is no reason for omitting standard errors. They are of value when results from several experiments are combined in the future. They are also useful to the reader as measures of efficiency of experimental techniques. **A value attached by “□” to a number implies that the second value is its standard error (not its standard deviation) unless otherwise specified.** Adequate reporting may require only (1) the number of observations, (2) arithmetic treatment means, and

(3) an estimate of experimental error. The pooled standard error of the mean is the preferred estimate of experimental error. Standard errors need not be presented separately for each mean unless the means are based on different numbers of observations or the heterogeneity of the error variance is to be emphasized.

Presenting individual standard errors clutters the presentation and can mislead readers.

For more complex experiments, tables of subclass means and tables of analyses of variance or covariance may be included. When the analysis of variance contains several error terms, such as in split-plot and repeated-measures designs, the text should indicate clearly which mean square was used for the denominator of each  $F$  statistic. Unbalanced factorial data can present special problems. Accordingly, it is appropriate to state how the computing was done and how the parameters were estimated. Approximations should be accompanied by cautions concerning possible biases.

Contrasts (preferably orthogonal) are used to answer specific questions for which the experiment was designed; they should form the basis for comparing treatment means. Nonorthogonal contrasts may be evaluated by Bonferroni  $t$  statistics. The exact contrasts tested should be described for the reader. Multiple-range tests are not appropriate when treatments are orthogonally arranged. Fixed-range, pairwise, multiple comparison tests should be used only to compare means of treatments that are unstructured or not related. In factorial treatment arrangements, means for main effects should be presented when important interactions are not present. Means for individual treatment combinations also should be provided in table or text so that future

researchers may combine data from several experiments to detect important interactions. An interaction may not be detected in a given experiment because of a limitation in the number of observations.

**Significance.** The observed significance level (e.g.,  $P = 0.03$ ) should be presented rather than merely  $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ , thereby allowing the reader to decide what to reject. The terms *significant* and *highly significant* have traditionally been reserved for  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ , respectively; however, reporting the exact  $P$ -value is preferred to the use of these terms. For example, use “... we observed a difference ( $P = 0.03$ ) between control and treated samples” rather than “...we observed a significant ( $P < 0.05$ ) difference between control and treated samples.” Other probability (alpha) levels may be discussed if properly qualified so that the reader is not misled. Do not report  $P$ -values to more than 2 or 3 places after the decimal (2 significant digits are usually sufficient). Regardless of the probability level used, failure to reject a hypothesis should be based on the relative consequences of Type I and II errors. A “nonsignificant” relationship should not be interpreted to suggest the absence of a relationship. An inadequate number of experimental units or insufficient control of variation limits the power to detect relationships. Avoid the ambiguous use of  $P > 0.05$  to declare nonsignificance, such as indicating that a difference is not significant at  $P > 0.05$  and subsequently declaring another difference significant (or a tendency) at  $P < 0.09$ . In addition, readers may incorrectly interpret the use of  $P > 0.05$  as the probability of a beta error, not an alpha error.

Present only meaningful digits. A practical rule is to round values so that the change caused by rounding is less than one-tenth of the standard error. Such rounding increases the variance of the reported value by less than 1%, so <1% of the relevant information contained in the data is sacrificed. In most cases, 2 or 3 significant digits (not decimal places) are sufficient.

#### Nomenclature: Genes and Proteins

The journal recommends using internationally accepted symbols for genes and proteins; such symbols may be used without definition. Symbols for specific genes and proteins can be obtained by querying the gene database of PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>) or the Gene Cards database ([www.genecards.org](http://www.genecards.org)) Nomenclature rules for humans, nonhuman primates, and livestock are available at [https:// www.genenames.org](https://www.genenames.org), and rules for mice and rats are at

<http://www.informatics.jax.org/mgihome//nomen/strains.shtml>. Gene symbols should be shown in italics (e.g., *SERPINA14*) and proteins in roman text (e.g., SERPINA14). Gene symbols are generally shown in all uppercase letters (e.g., *LHB*), except in mice and rats, where only the first letter is capitalized (e.g., *Lhb*).

#### Nomenclature: Single Nucleotide Polymorphisms

The increasing number of SNP association studies and the improvements in bovine genome annotation require a standardized SNP nomenclature for unequivocal and correct SNP identification. Additionally, information regarding the SNP investigated should be easily accessible in a publicly available database. Therefore, all relevant SNPs included in a study should be listed with their unique RefSNP (rs) as indicated in the public domain NCBI dbSNP database (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>). If the SNP investigated do not yet have an entry in the NCBI dbSNP database, the authors of the manuscript are responsible for submitting all the required information to NCBI (see <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>) for depositing the SNP into the database and obtaining a unique accession number for the SNP. In the text of the manuscript, use the rs/accession number of the SNP or an alternative standardized nomenclature.

#### Nomenclature: Microorganisms

All microorganisms must be named by genus and species. The name of the genus must appear in full the first time that the microorganism is cited in the abstract, in the body of the paper, and in each table and figure legend. Thereafter, the genus can be abbreviated by its first initial unless it will be confused with other microorganisms cited in the paper, in which case each genus should be abbreviated to use enough letters to avoid confusion (e.g., *Strep.* vs. *Staph.*). The formal, binomial names of all microorganisms should be in italics. Specific strain designations and numbers should be used when appropriate.

For microorganisms that are genetic variants of a parent strain, the genotypic and phenotypic properties should be cited according to the procedures described by Demerec et al. (1966) in *Genetics* 54:61–76 ([www.genetics.org/content/54/1/61.long](http://www.genetics.org/content/54/1/61.long)). Phenotypes should be identified by 3 letters; the first is capitalized. Genotypes should be identified by 3 lowercase italic letters. Superscript plus (+) signs are used to refer to

a wild-type. The serial isolation number is placed after the locus symbol for mutations. The delta symbol is used to indicate deletions.

#### Nomenclature: Enzymes

First mention of an enzyme within a manuscript should include the Enzyme Commission (EC) number (<https://enzyme.expasy.org/>).

#### In Vitro Antimicrobial Susceptibility Tests

Authors should avoid the use of the term “antibiotic” when referring to a specific agent unless that agent is naturally occurring and unmodified (e.g., penicillin). The broader term “antimicrobial agent” is preferred because it includes naturally produced agents, semisynthetic agents, and totally synthetic agents. The term “susceptibility” should be used instead of “sensitivity.” Authors unfamiliar with antimicrobial susceptibility testing should obtain CLSI (formerly NCCLS) document M31 (Clinical Laboratory Standards Institute, 940 W. Valley Rd., Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898) for specific information regarding antimicrobial susceptibility testing of veterinary pathogens. CLSI or equivalent methods for antimicrobial susceptibility testing available outside the US are also acceptable.

Two methods are generally used to generate antimicrobial susceptibility data: the agar disk diffusion (ADD) method and the minimum inhibitory concentration (MIC) method. The use of the term “Kirby-Bauer” to refer to the ADD method is incorrect and should be avoided. The correct citation for this method is the “disk

diffusion method of Bauer et al.” The ADD method is a qualitative method and results should be reported as susceptible, intermediate, or resistant (SIR). If zone of inhibition diameters are reported, these should be reported in millimeters.

The MIC method is quantitative and results should be reported in micrograms per milliliter ( $\mu\text{g/mL}$ ). The minimum summary statistics for reporting MIC results from multiple strains of an organism are the MIC<sub>50</sub>, the MIC<sub>90</sub>, and the range. The MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> represent the concentrations required to inhibit 50 and 90% of the strains, respectively. The MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> reported should be the actual concentrations tested, not values calculated from the actual data obtained. When

<10 isolates of a species are tested, tabulate only the MIC range of each antimicrobial agent tested. If more than a single drug is studied, insert a column labeled “test agent” between the columns listing the organisms and the columns

containing the numerical data, and record data for each agent in the same isolate order. In addition, the percentage of strains categorized as susceptible, intermediate, or resistant may be reported. If only one of these categories is to be reported, the percent susceptible value is preferred. If the percentage of resistant isolates is to be reported for an agent, it should include isolates categorized as intermediate.

The percentage of strains susceptible or resistant to an antibiotic at its breakpoint concentration may be given only if an appropriate breakpoint has been approved, as by CLSI. Given the paucity of approved breakpoints for mastitis pathogens, authors may use breakpoints from other species (e.g., human breakpoints for ampicillin or canine breakpoints for enrofloxacin). However, authors must clearly state that the breakpoints are not approved for mastitis pathogens. Moreover, authors cannot assign breakpoints or use breakpoints from related antibiotics (except for class testing purposes) or breakpoints developed for other methods.

Authors must indicate that the appropriate quality control tests were performed. Information regarding the frequency of testing and the specific strains tested should be provided. The frequency of quality control testing and organisms tested should conform to the recommendations in the CLSI standard (document M31) or equivalent. A single statement in the manuscript indicating that the results obtained for the quality control documents were within published ranges is acceptable. However, authors may be asked for the quality control information during the manuscript review cycle.

#### Sensory Data

Sensory data should comply with “*Invited Review: Sensory Analysis of Dairy Foods*,” J. Dairy Sci. 90:4925–4937 (<https://doi.org/10.3168/jds.2007-0332>).

#### Miscellaneous Usage Notes

**Abbreviations.** Abbreviations should not be used in the title, key words, or to begin sentences, except when they are widely known throughout science (e.g., DNA, RNA) or are terms better known by their abbreviation. Appendices 1 and 2 of this document list abbreviations that can be used without definition. The suitability of abbreviations will be evaluated by the reviewers and editors during the review process and by the technical editor during editing. Terms used fewer than 3 times after first use must be spelled out in full rather than abbreviated. Do not use capitalized whole words (e.g., CORN) as treatment abbreviations, or single-letter abbreviations that could be confused with chemical elements (e.g., P, C, S). All terms are to be spelled out in full



with the abbreviation following in bold type in parentheses the first time they are mentioned in the main body of the text. Abbreviations shall be used consistently thereafter.

The abstract, text, each table, and each figure must be understood independently of each other. Therefore, abbreviations shall be defined within each of these units of the manuscript.

***Foreign and Latin Words and Phrases.*** Non-English words in common usage (i.e., given in recent editions of standard dictionaries) will not appear in italics (e.g., *in vitro*, *in vivo*, *ad libitum*, *in situ*, *a priori*). However, genus and species of plants, animals, or bacteria and viruses should be italicized; in addition, all taxa of bacteria should be italicized.

***Capitalization.*** Breed and variety names are to be capitalized (e.g., Holstein, Danish Red). Trademarked or registered names should be capitalized, but no <sup>TM</sup> or <sup>®</sup> symbols should be used. Proper nouns should be capitalized.

***Numbers and Units.*** The *Journal of Dairy Science* uses the Council of Science Editors' number style given in the eighth edition of *Scientific Style and Format* (numerals used for all numbers).

Measures must be in the metric (SI) system; however, US equivalents may be given in parentheses. Measures of variation must be defined in the Abstract and in the body of the paper at first use.

Monetary values should be presented in US dollars or euros. If other currencies are used, a conversion to US dollars should be given at first use.

***SI Units.*** Units of measure should be abbreviated according to standard SI usage and do not need to be defined. See "Appendix 2: Selected Units and Terms" on page 12 for a list of commonly used terms. The following site (National Institute of Standards and Technology) provides a comprehensive guide to SI units and usage: <https://physics.nist.gov/cuu/Units/index.html>.

***General Usage.*** Note that "and/or" is not permitted; choose the more appropriate meaning or use "x or y or both."

Use the slant line only when it means "per" with numbered units of measure or "divided by" in equations. Use only one slant line in a given expression: e.g., g/cow per day. The slant line may not be used to indicate ratios or mixtures.

***Commercial Products.*** The use of names of commercial products should be minimized. When a commercial product is being tested as part of the experiment,

the manufacturer and location should be given parenthetically at first mention in text, tables, and figures, but, when possible, the generic name should be used thereafter. Only generic names should be used in article titles. Trademark symbols and registration marks should not be used and will be removed.

Studies using commercial products should address a hypothesis-based question relevant to the biology or mechanism of action of the product. When possible, cite easily accessible references to describe a method being used instead of describing a method as “per manufacturer’s instructions.”

## SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

Authors should submit their papers online to the journal peer-review site. Authors should upload manuscripts using the fewest files possible to facilitate review. Detailed instructions for submitting electronically are provided online (<https://mc.manuscriptcentral.com/jds>). All authors must have an account in the peer-review system and the submitting author must link all author accounts to the manuscript. Authors who are unable to submit online should contact Shauna Miller, editorial assistant ([shaunam@assochq.org](mailto:shaunam@assochq.org)).

## PRODUCTION OF PROOFS

Accepted manuscripts are downloaded from ScholarOne Manuscripts to the editorial office for technical editing and composition. After technical editing, the manuscript is typeset, figures reproduced, and author proofs prepared.

### Proofs

Author proofs (PDF) will be sent by e-mail to the corresponding author. Although the proof appears in a 2-column page format, it should be considered a galley proof; page layout may change when the article is paginated into an issue. Author proofs should be read carefully and checked against the typed manuscript, because responsibility for proofreading lies with the authors. The Comments feature in Adobe Acrobat or Reader may be used to insert changes and comments within the proof PDF.

Proof corrections should be made and returned to the technical editor within 3 days of receipt. Publication cannot proceed until proofs are returned. Contact a

technical editor at [journals@assoqh.org](mailto:journals@assoqh.org) if you have questions about the proof correction process.

#### Articles in Press

Corrected proofs will be posted weekly on the Articles in Press (AiP) site (<https://www.journalofdairyscience.org/inpress>) and remain there until the article is published in a monthly issue of the journal.

The following abbreviations may be used without definition in the *Journal of Dairy Science*. In addition, abbreviations of all chemical elements, common combinations of chemical elements, SI units of measure used with a value, and common amino acids (3-letter and 1-letter abbreviations) should be used without definition. Abbreviations are generally not permitted in the title, running head, and key words. Plural abbreviations do not require “s”.

#### Unrestricted Use

##### Appendix 1: Abbreviations

AA = amino acid  
 ACTH = adrenocorticotropin  
 AMP, ADP, ATP = adenosine mono-, di-, or triphosphate  
 ANOVA = analysis of variance  
 ATPase = adenosine triphosphatase  
 BLUP = best linear unbiased predictor  
 BSA = bovine serum albumin  
 cDNA = complementary deoxyribonucleic acid  
 DNA = deoxyribonucleic acid  
 DNase = deoxyribonuclease  
 dNTP = deoxynucleotide triphosphates  
 EDTA = ethylenediaminetetraacetate  
 EGTA = ethylene glycol tetraacetate  
 ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay  
 FSH = follicle-stimulating hormone  
 GAPDH = glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase  
 GnRH = gonadotropin-releasing hormone  
 GWAS = genome-wide association study  
 HEPES = *N*-2-hydroxyethyl piperazine-*N'*-ethanesulfonic acid  
 HPLC = high-performance (pressure) liquid chromatography  
 IFN = interferon  
 Ig = immunoglobulin  
 IL = interleukin  
 LH = luteinizing hormone  
 mAb = monoclonal antibody  
 MALDI-TOF = matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight  
 mRNA = messenger ribonucleic acid  
 NAD<sup>+</sup>/NADH = nicotinamide adenine dinucleotide (oxidized/reduced)  
 NADP = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate  
 NADPH<sub>2</sub> = reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate  
 PAGE = polyacrylamide gel electrophoresis  
 PCR = polymerase chain reaction  
 PGF<sub>2α</sub> = prostaglandin F<sub>2α</sub>  
 REML = restricted maximum likelihood  
 RFLP = restriction fragment length polymorphism  
 RIA = radioimmunoassay  
 RNA = ribonucleic acid  
 RNase = ribonuclease  
 rRNA = ribosomal ribonucleic acid

SNP = single nucleotide polymorphism Tris = tris(hydroxymethyl)aminomethane UHT = ultra-high temperature  
 USDA = United States Department of Agriculture UV = ultraviolet

**Define in Abstract; Unrestricted Use Elsewhere**

ADF = acid detergent fiber ADG = average daily gain ADL = acid detergent lignin  
 ADIN = acid detergent insoluble nitrogen AI = artificial insemination  
 BCS = body condition score BHB =  $\beta$ -hydroxybutyrate bST = bovine somatotropin BTA = *Bos taurus*  
 autosome BUN = blood urea nitrogen BW = body weight  
 CI = confidence interval\*  
 CLA = conjugated linoleic acid  
 CN = casein  
 CNS = coagulase-negative staphylococci (see NAS)  
 CoA = coenzyme A  
 CP = crude protein  
 CV = coefficient(s) of variation\*  
 DCAD = dietary cation-anion difference df = degrees of freedom\*  
 DHI(A) = Dairy Herd Improvement/Information (Association) DIM = days in milk  
 DM = dry matter  
 DMI = dry matter intake  
 EAA = essential amino acid EBV = estimated breeding value ECM = energy-corrected milk  
 ETA = estimated transmitting ability FAME = fatty acid methyl esters FCM = fat-corrected milk  
 GC = gas chromatography  
 GLC = gas-liquid chromatography  
 $h^2$  = heritability\*  
 HTST = high temperature, short time IGF = insulin-like growth factor  
 IMI = intramammary infection  
 $\alpha$ -LA =  $\alpha$ -lactalbumin  $\beta$ -LG =  $\beta$ -lactoglobulin  
 LPS = lipopolysaccharide  
 LSD = least significant difference\* LSM = least squares means\*  
 ME = metabolizable energy  
 MIC = minimum inhibitory concentration  
 MP = metabolizable protein  
 MS = mass spectrometry  
 MUFA = monounsaturated fatty acids  
 MUN = milk urea nitrogen  
 n = number of samples\*  
 NAN = nonammonia nitrogen NAS = non-*aureus* staphylococci NDF = neutral detergent fiber  
 NDIN = neutral detergent insoluble NNDM = nonfat dry milk  
 NEAA = nonessential amino acid  $NE_G$  = net energy for gain  
 $NE_L$  = net energy for lactation  $NE_M$  = net energy for maintenance NFC = nonfiber carbohydrates NPN  
 = nonprotein nitrogen  
 NRC = National Research Council  
 NS = nonsignificant\*  
 NSC = nonstructural carbohydrates  
 OM = organic matter  
 PBS = phosphate-buffered saline PMN = polymorphonuclear leukocyte PTA = predicted transmitting ability  
 PUFA = polyunsaturated fatty acids  
 r = correlation coefficient\*  
 $R^2$  = coefficient of determination\* QTL = quantitative trait loci  
 RDP = rumen-degradable protein RUP = rumen-undegradable protein SARA = subacute ruminal acidosis  
 SCC = somatic cell count  
 SCS = somatic cell score  
 SD = standard deviation\* SDS = sodium dodecyl sulfate SE = standard error\*  
 SEM = standard error of the mean\* SFA = saturated fatty acids  
 SNF = solids-not-fat  
 SPC = standard plate count TDN = total digestible nutrients TMR = total mixed ration  
 TS = total solids  
 UF = ultrafiltration, ultrafiltered UFA = unsaturated fatty acids VFA = volatile fatty acids

\*Unrestricted use in tables and parenthetical expressions; spell out/define at first use in running text.

## 12 Appendix 2: Selected Units and Terms

The following units and terms can be used without definition in the *Journal of Dairy Science*.

atomic mass unit	amu
atmosphere	atm
base pair	bp
calorie (gram)	cal
celsius (with number)	°C
centimeter	cm
centimeter, square	cm <sup>2</sup>
circa	ca.
centimorgan	cM
centipoise	cP
central processing unit	CPU
colony-forming unit	cfu
counts per minute	cpm
counts per second	cps
crossed with, times	×
cubic	cu
cubic centimeter	cc, cm <sup>3</sup>
cubic millimeter	mm <sup>3</sup>
curie	Ci
cycles per second (hertz)	Hz
day(s)	d
dalton	Da
deci	d (prefix)
deciliter	dL
electron volt	eV
equivalents	Eq
foot-candle	use lx
gram	g
gravity	g
hectare	ha
hour(s)	h
inside diameter	i.d.
international unit	IU
intramuscularly	i.m.
intraperitoneally	i.p.
intravenously	i.v.
joule	J
kilo	k (prefix)
kilobase	kb
kilobyte	KB
kilocalorie	kcal
kilogram	kg
kilopascal	kPa
liter	L
logarithm (natural)	ln
logarithm (base 10)	log <sub>10</sub>
lux	lx
mega	M (prefix)
meter	m
metric tonne	tonne or t
micro	μ (prefix)
microcurie	μCi
microfarad	μF
microgram	μg
microliter	μL

milli	m (prefix)		
milliliter	mL		
millimeters of mercury	mm Hg	millimolar (concentration)	mM (= mmol/L)
millimole (mass)	mmol		
minute(s)	min		
molar (concentration)	M		
molar (mass)	mol		
mole (number, mass)	mol		
month(s)	mo		
morning/afternoon	a.m./p.m.		
nano	n (prefix)		
newton	N		
normal (concentration)	N		
nanogram	ng		
osmolality	use mmol/kg		
outside diameter	o.d.		
parts per billion	ppb (use $\mu\text{g}/\text{kg}$ or equivalent)		
parts per million	ppm (use $\text{mg}/\text{kg}$ or equivalent)		
pascal	Pa		
pico	p (prefix)		
picogram	pg		
plaque-forming unit	pfu		
probability	P		
revolutions per minute	rpm		
second(s)	s		
siemens	S		
species	spp.		
subcutaneous	s.c.		
subspecies	ssp.		
thousands (approximation)	K (e.g., 50K SNPs)	unit	U
volt	V		
volume	vol		
volume/volume	vol/vol (use parenthetically)		
watt	W		
week(s)	wk		
weight/volume	wt/vol (use parenthetically)		
year(s)	yr		
<b>Amino Acids</b>			
alanine	Ala		
arginine	Arg		
asparagine	Asn		
aspartic acid	Asp		
citrulline	Cit		
cysteine	Cys		
glutamic acid	Glu		
glutamine	Gln		
glycine	Gly		
histidine	His		
isoleucine	Ile		
leucine	Leu		
lysine	Lys		
methionine	Met		
ornithine	Orn		
phenylalanine	Phe		
proline	Pro		
serine	Ser		
threonine	Thr		
tryptophan	Trp		
tyrosine	Tyr		
valine	Val		