

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**EFEITO DE ADITIVOS E PLANOS NUTRICIONAIS NO CONSUMO,  
DESEMPENHO, METABÓLITOS SANGUÍNEOS, ESTRESSE OXIDATIVO EM  
VACAS LEITEIRAS DE DIFERENTES COMPOSIÇÕES RACIAIS NO  
PERÍODO DE TRANSIÇÃO**

Elissa Forgiarini Vizzotto

Zootecnista - UFSM  
Mestre em Zootecnia - UFRGS

Tese apresentada como um dos requisitos para a obtenção do grau de Doutor  
em Zootecnia  
Área de Concentração em Produção Animal

Porto Alegre (RS), Brasil  
Março de 2018.

### CIP - Catalogação na Publicação

Vizzotto, Elissa  
EFEITO DE ADITIVOS E PLANOS NUTRICIONAIS NO  
CONSUMO, DESEMPENHO, METABÓLITOS SANGUÍNEOS, ESTRESSE  
OXIDATIVO EM VACAS LEITEIRAS DE DIFERENTES  
COMPOSIÇÕES RACIAIS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO / Elissa  
Vizzotto. -- 2018.  
165 f.  
Orientadora: Vivian Fischer.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. Bovinos de leite. 2. Período de transição. 3.  
Ofertas nutricionais. 4. Fitoquímicos. 5. Girolando .  
I. Fischer, Vivian, orient. II. Título.

Elissa Forgiarini Vizzotto  
Zootecnista E Mestre Em Zootecnia

**TESE**

Submetida como parte dos requisitos  
para obtenção do Grau de

**DOUTORA EM ZOOTECNIA**

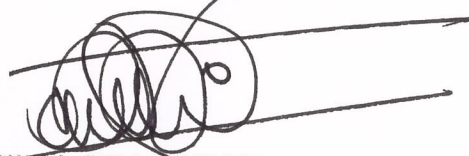
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia  
Faculdade de Agronomia  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovada em: 29.03.2018  
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 02/05/2018  
Por



VIVIAN FISCHER  
PPG Zootecnia/UFRGS  
Orientador



DANILO PEDRO STREIT JR.  
Coordenador do Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia



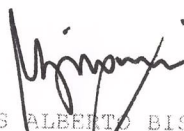
MARCIO NUNES CORRÊA  
PPG Biotecnologia/UPFEL



LUIZ GUSTAVO RIBEIRO PEREIRA  
Embrapa



FELIPE CARDOSO  
Universidade de Illinois



CARLOS ALBERTO BISSANI  
Diretor da Faculdade de Agronomia

*Aos meus pais Carmem e Gilberto pelo exemplo de família, ensinamentos de vida e incentivo na continuação dos estudos.*

*Ao meu irmão Tobias que sempre contribui para o meu crescimento profissional com os seus auxílios*

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer a minha orientadora professora Dr. Vivian Ficher, por me orientar encorajando-me a superar muitos desafios ao longo do meu estudo. Sua dedicação ao trabalho, motivação, empenho na pesquisa; meticulosidade e exigência com seus orientados serão motivos de exemplo.

Gostaria de sinceramente agradecer a equipe de pesquisa e funcionários da Empraba clima temperado Pelotas por ter cedido a sua estrutura para a realização do experimento, em especial a Dr. Maira Zanela pelos conselhos e palavra amiga e ao veterinário Cristiano pela dedicação aos animais do experimento.

A Embrapa gado de leite Juiz de Fora, onde tentei aproveitar ao máximo todo o conhecimento gerado na instituição, a sua equipe de pesquisa em especial ao pesquisador Dr. Luiz Gustavo Pereira, exemplo de profissional da pesquisa, obrigada pelas sugestões profissionais, conselhos e informações amplas, foi um grande prazer poder trabalhar com esta equipe e enriquecer meus conhecimentos a respeito da pesquisa com bovinos Gir e Girolando no Brasil. Muito obrigada pelo acolimento de todos os funcionários do Complexo Multiusuário, pelo abraço amigo nos dias de aflição e as risadas nos dias de alegria. Aos vigias noturnos que não poupavam esforços para nos ajudar com os animais doentes ou com vacas parindo meu muito obrigada.

A todos os estagiários, estudantes de mestrado e doutorado que encontrei na Embrapa Gado de Leite obrigada, conviver com pessoas diferentes diariamente foi enriquecedor. Em especial a os pós graduandos Raquel, Marina, Camila, Aline, Carina, Daniele, Carolina, Abias, João, Adolfo e Duarte desejo muito sucesso na vida profissional de vocês e que Deus sempre os guie. A os estagiários Mateus, Isabela, Guilherme, Henrique, Paulo e Iorrano, meu muito obrigada concerteza aprendi muito com vocês também.

Aos membros do grupo de pesquisa NUPLAC, colegas e amigos especialmente João, Anne, Michele, Lorena e Daíse obrigada pelo auxílio nos experimentos e as trocas de conhecimento.

Sheila sem nossa amizade e companheirismo nada disso seria possível, muito obrigada de coração por toda a dedicação em nossos experimentos.

Mais importante, desejo expressar minha profunda gratidão aos meus pais pelo apoio incondicional e paciência ilimitada na minha vida por todos os momentos especiais que não pude estar presente.

## **EFEITO DE ADITIVOS E PLANOS NUTRICIONAIS NO CONSUMO, DESEMPENHO, METABÓLITOS SANGUÍNEO, ESTRESSE OXIDATIVO EM VACAS LEITEIRAS DE DIFERENTES COMPOSIÇÕES RACIAIS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO<sup>1</sup>**

Autor: Elissa F.Vizzotto

Orientador: Dr.Vivian Fischer

**Resumo:** O estudo envolveu dois experimentos com o objetivo de avaliar o efeito de estratégias de alimentação sobre o estresse oxidativo, consumo, metabólitos sanguíneos, a evolução da produção e composição do leite de vacas de diferentes composições raciais durante o período de transição. Estudo 1:Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com medidas repetidas no tempo e 24 vacas da raça Jersey foram distribuídas nos tratamentos controle - sem a adição de extratos vegetais (CON), adição de 10 gramas/dia de extrato de orégano (EO) e adição de 5,0 g/dia de extrato de chá verde (ECV).O fornecimento de extrato de orégano melhorou a eficiência alimentar e a produção de leite em relação ao extrato de chá verde. A adição de extratos vegetais na dieta reduziu o radical livre(ROS) DCFE, contribuindo para redução do estresse oxidativo. Estudo 2:Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2x2 (duas composições raciais e dois planos nutricionais no pré parto) com seis repetições e medidas repetidas no tempo. Durante 21 dias pré parto, novilhas Girolando F1 (½ Holandês ½ Gir) e Holandês receberam a mesma dieta total misturada (TMR), variando somente a quantidade ofertada (plano nutricional): 1,69 ou 1,89% do peso corporal(PC) de matéria seca. No pós parto, os animais receberam dietas semelhantes formuladas conforme as recomendações do NRC (prevista para raça Holandês). O plano nutricional de 1,89% do PC aumentou a concentração de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no pré parto, a concentração de glicose no pós parto e o estresse oxidativo durante todo o período experimental em relação ao plano nutricional 1,69% do PC. Os animais da raça Girolando F1 apresentaram os maior ECC durante todo o período experimental, menor ingestão de matéria seca no pré e pós parto e menor consumo de energia metabólica no pós parto; aumento da concentração de creatinina e AGNE no pré parto e maior concentração de glicose no pós parto; menor produção de leite, menor concentração de lactose em relação a animais Holandês. Diferenças metabólicas como as concentrações de AGNE, creatinina e glicose entre as composições raciais podem ter influenciado as variáveis indicativas de estresse oxidativo. O plano nutricional 1,89% do PC durante o período seconão deve ser oferecido, independentemente da composição racial. Animais Girolando F1 devem ser manejados de forma distinta de animais Holandês durante o período de transição, pois apresentam diferenças de consumo e metabolismo.

**Palavras-chave:** Fitoquímicos, plano alimentar, composição racial, estresse oxidativo, metabólitos sanguíneos.

---

<sup>1</sup>Tese de Doutorado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil (170 p.), Março, 2018.

## EFFECT OF ADDITIVES AND NUTRITIONAL PLANS ON CONSUMPTION, PERFORMANCE, BLOOD METABOLITES, OXIDATIVE STRESS IN DAIRY COWS OF DIFFERENT RACIAL COMPOSITIONS IN THE TRANSITION PERIOD<sup>1</sup>

Author: Elissa F. Vizzotto

Adviser: Dr. Vivian Fischer

**Abstract:** The study was performed based on two trials and aimed of evaluating the effect of feeding strategies on oxidative stress, consumption, blood metabolites, milk production and milk composition of cows of different racial compositions during the transition period. Trial 1: we used a completely randomized design, with repeated measures along the time, where 24 Jersey cows were distributed in two diets: control - without the addition of plant extracts (CON), addition of 10 grams per day of oregano extract (OE) and addition of 5.0 grams per day of green tea extract (GTE). The supply of OE improved feed conversion during the postpartum period and milk production compared to GTE. The addition of plant extracts in the diet reduces the free radical (ROS) DCFE, contributing to the reduction of oxidative stress. Trial 2: A completely randomized experiment design was used, in a 2x2 factorial arrangement (two racial compositions and two nutritional plans in prepartum), with time-repeated measures (during days), with four treatments and six repetitions (heifers) in each treatment. For 21 day before of prepartum, nuluparous females Girolando F1 (½ Holstein ½ Gir) and Holstein received the same total mixed diet (TMR), varying only the amount offered (nutritional plan): 1.69 and 1.89% of (BW) of dry matter. In the postpartum the animals received the same basal diet formulated according to the recommendations of the NRC (predicted for Holstein). The nutritional plane of 1.89% showed a higher concentration of calcium and non-esterified fatty acids (NEFA) in the prepartum, higher concentration of glucose in the postpartum period and greater oxidative stress throughout the experimental period in relation to the nutritional plane 1,69% of the PC. The animals Girolando F1 had the highest ECC during the experimental period, lower intake of dry matter in the pre and postpartum, and lower metabolic energy consumption in the postpartum period; increased creatinine concentration and NEFA in prepartum and higher postpartum glucose concentration; lower milk yield, lower lactose concentration in relation to Hostein animals. Metabolic differences such as the concentrations of NEFA, creatinine and glucose among racial compositions may have influenced the variables indicative of oxidative stress. The nutritional plan 1.89%CP supply during the dry period should not be indicated. Girolando F1 animals should be handled differently from Holstein animals during the transition period, as they exhibit differences in intake and metabolism.

**Key words:** Phytochemicals, food plan, racial composition, oxidative stress, blood metabolites

---

<sup>1</sup>Doctoral Thesis in Animal Science – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (170 p.), March, 2018.

## Sumário

Lista de Tabelas.....	8
Lista de Figuras.....	10
Lista de Abreviaturas e Símbolos.....	12
<b>CAPÍTULO I</b> .....	<b>13</b>
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 Consumo de matéria seca durante o pré parto e sua relação com o consumo e a produção pós parto.....	16
2.2 Histórico da raça e metabolismo dos animais Girolando durante o período de transição.....	20
2.3 Sistema Imune durante o período de transição.....	22
2.4 Estresse oxidativo em bovinos de leite durante o período de transição..	25
2.5 Fitoquímicos para bovinos de leite.....	27
3. HIPÓTESES.....	31
4. OBJETIVO.....	31
<b>CAPÍTULO II</b> .....	<b>32</b>
Extrato de chá verde e de orégano na dieta de vacas jersey durante o período de transição, como potenciais agentes anti-oxidantes.....	32
Resumo.....	34
Introdução.....	35
Material e métodos.....	37
Discussão.....	46
Conclusão.....	52
Referências.....	52
<b>CAPÍTULO III</b> .....	<b>81</b>
Diferentes ofertas de dietas no pré parto modificam o consumo e estresse oxidativo no período de transição de vacas da raça Holandês e Girolando F1	81



Resumo.....	83
Introdução .....	84
Material e métodos.....	86
Resultados .....	92
Discussão.....	96
Conclusão .....	102
Referências .....	103
<b>CAPÍTULO IV</b> .....	137
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	138
APÊNDICES .....	153
VITA .....	165

## Lista de Tabelas

		Página
<b>Capítulo II</b>		
Tabela 1.	Composição bromatológica e digestibilidade dos alimentos e das dietas basais ofertadas durante o período de pré e pós parto.	65
Tabela 2.	Quantidades consumidas de matéria seca e frações da dieta de vacas Jersey durante o período de transição recebendo ou não extratos de orégano e chá verde	67
Tabela 3.	Valores de peso corporal, escore de condição corporal de vacas Jersey durante o período de transição recebendo ou não extratos de orégano e chá verde	69
Tabela 4.	Valores médios dos metabólitos sanguíneos das vacas de vacas Jersey durante o período de transição recebendo ou não extratos de orégano e chá verde	70
Tabela 5.	Parâmetros hematológicos das vacas de vacas Jersey durante o período de transição recebendo ou não extratos de orégano e chá.verde	72
Tabela 6.	Valores dos fatores enzimáticos antioxidantes e espécies reativas de vacas Jersey durante o período de transição recebendo ou não extratos de orégano e chá verde	73
Tabela 7.	Produção e composição físico-química de vacas Jersey durante o período de transição recebendo ou não extratos de orégano e chá verde	75
<b>Capítulo III</b>		
Tabela 1.	Composição química da TMR experimental fornecida no pré e no pós parto a fêmeas bovinas leiteiras Holandês e Girolando F1 durante o período de transição	118
Tabela 2.	Peso corporal (PC), escore de condição corporal (ECC) e variação de peso e de ECC de vacas leiteiras Holandês e Girolando F1( $\frac{1}{2}$ Holandês e $\frac{1}{2}$ Gir) durante o período de transição recebendo planos nutricionais de 1,69% ou 1,89% do PC	120
Tabela 3.	Consumo de MS, EB, FDN e PB de vacas leiteiras Holandês e Girolando F1 ( $\frac{1}{2}$ Holandês e $\frac{1}{2}$ Gir) durante o período de transição recebendo planos nutricionais de 1,69% ou 1,89% do PC	121
Tabela 4.	Parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras Holandês e Girolando F1 ( $\frac{1}{2}$ Holandês e $\frac{1}{2}$ Gir) durante o período de transição recebendo planos nutricionais de 1,69% ou 1,89% do PC	122

Tabela 5.	Atributos do estresse oxidativo de vacas leiteiras Holandês e Girolando F1 ( $\frac{1}{2}$ Holandês e $\frac{1}{2}$ Gir) durante o período de transição recebendo planos nutricionais de 1,89% ou 1,69% do PC	124
Tabela 6.	Produção e atributos físico-químicos do leite de vacas leiteiras Holandês e Girolando F1 ( $\frac{1}{2}$ Holandês e $\frac{1}{2}$ Gir) durante o período de transição recebendo planos nutricionais de 1,89% ou 1,69% do PC	126

## Lista de Figuras

<b>Capítulo I</b>				
Figura 1.	Curva de ingestão de nutrientes digestíveis totais conforme os tratamentos e dias experimentais durante o período pós parto			77
Figura 2.	Curvas de consumo de MS (Kg/PC <sup>0.75</sup> ) e escore de peso corporal conforme os tratamentos e dias experimentais durante o período de 7 dias antes do parto e 21 dias pós parto			78
Figura 3.	Valores da enzima diclorofluoresceína (DCFE) conforme os tratamentos e dias experimentais			79
Figura 4.	Médias do cálcio iônico no leite de vacas recebendo extrato de orégano ou extrato de chá verde durante as primeiras três semanas após o parto			80
 <b>Capítulo III</b>				
Figura 1.	Escores de condição corporal de vacas leiteiras Holandês e ½ Holandês e ½ Gir durante o período pré parto (-21 a 0 dias) e pós parto (1 a 21 dias)			128
Figura 2.	A) consumo de matéria seca (kg/pc <sup>0.75</sup> /dia) e B) consumo de energia metabolizável (Mcal/ pc <sup>0.75</sup> /dia) de vacas Girolando F1 (½ Holandês ½ Gir) (-) e holandês (....) durante o período pré (-21 a 0 dias) e pós parto (1 a 21)			129
Figura 3.	(A) valores de AGNE de vacas das composições raciais Girolando F1 (½ Holandês ½ Gir e Holandês) e (B) valores de AGNE de vacas recebendo os planos nutricionais de 1,69 e 1,89% do peso corporal durante o período de transição			130
Figura 4.	Valores de creatinina no plasma (mmol/l) de vacas das composições raciais Girolando F1 (½ Holandês ½ Gir) e Holandês (A) e concentração de glicose plasmática de vacas dos planos nutricionais de 1,69 e 1,89% do peso corporal durante o período de transição			131
Figura 5.	Concentração da enzima DCFE durante o período de transição			132
Figura 6.	Concentração da enzima DCFP (A) e GSH (B) durante o período de transição.			133
Figura 7.	Concentração da enzima GPx durante o período de transição entre as composições raciais e planos nutricionais			134
Figura 8.	Produção de leite das composições raciais Girolando F1 (½ Holandês ½ Gir) e Holandês durante o período de transição			135

Figura 9. Concentração de gordura no leite de vacas das composições raciais Girolando F1 ( $\frac{1}{2}$  Holandês  $\frac{1}{2}$  Gir) e Holandês durante o período de transição 136

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AGNE- Ácidos graxos não esterificados  
BHB- Betahidroxibutirato  
CCS - Contagem de células somáticas  
CARBO - Carbonilas  
CMS- Consumo de matéria seca  
COM - Tratamento controle  
CAT- Catalase  
DCF - Diclorofluoresceína  
DIVMS - Digestibilidade in vitro da MS  
ECC- Escore de condição corporal  
ECV- Extrato de chá verde  
ED - Energia digestível  
EM - Energia Metabolizável  
EO- Extrato de orégano  
FDN- Fibra em detergente neutro  
GH - Hormônio do crescimento  
GPx - Glutathione peroxidase  
GSH- Glutathione reduzida  
Hp - Haptoglobina  
IGF1- Fator de crescimento insulina 1  
LPS- Lipopolisacarídeos  
MS- Matéria seca  
NEL- Energia líquida  
NDT- Nutrientes digestíveis totais  
PB- Proteína bruta  
PC- Peso corporal  
PLCE - Produção de leite corrigida para energia  
PLCG - Produção de leite corrigida para gordura  
ROS - Espécies reativas de oxigênio ou radicais livres  
SAA - Proteína soro amiloide A  
SOD - Superóxido dismutase  
TIÓIS- -SH, grupo das sulfidrilas  
TMR- Dieta totalmente misturada  
TNF - Fator de necrose tumoral  $\alpha$   
NFkB- Fator nuclear kappa B  
Nrf2 - Eritróide 2

## **CAPÍTULO I**

## 1. INTRODUÇÃO

O período de transição compreende três semanas antes e três semanas após o parto e coincide com muitas alterações endócrinas e metabólicas que, quando não bem coordenadas, podem acarretar aumento da incidência de problemas metabólicos e infecciosos. É, portanto, durante esse período que a vaca de leite deve ser alimentada e manejada estrategicamente para apresentar o mínimo estresse possível.

Dificuldades durante o período de transição se relacionadas ao manejo ou à nutrição podem resultar em reduzida ingestão de matéria seca, baixa produção de leite, prolongamento do período de anestro, incapacidade de conceber e aumento da ocorrência das doenças metabólicas e infecciosas após o parto.

Nas últimas décadas de pesquisas, foram testadas estratégias nutricionais principalmente no que se diz respeito ao aumento de carboidratos não fibrosos, rapidamente degradáveis para manter a ingestão de matéria seca e suprir as necessidades energéticas dos animais e, mais recentemente, a utilização de dietas fibrosas durante o período pré parto, como forma de reduzir os elevados escores de condição corporal e incidência de doença metabólica. No entanto, processos inflamatórios durante o período de transição e o baixo consumo de matéria seca após o parto resultando em balanço energético negativo permanecem.

A ativação de mediadores inflamatórios, além modificar a síntese hepática aumentando a liberação de ácidos graxos, causa excessivo aumento da lipólise e redução do consumo, conforme a teoria da oxidação hepática. Os ácidos graxos em circulação tornam-se oxidados por radicais livres e os antioxidantes esgotam-se rapidamente, ocorrendo o aumento do estresse oxidativo.

A produção de citocinas pró-inflamatórias aumenta os neutrófilos que ao se tornarem ativados, aumentam as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e proteases, que podem promover a degradação da barreira do leite - sangue (junções firmes da glândula mamária) e induzir danos no tecido epitelial mamário, contribuindo para redução da saúde da glândula mamária.

Agentes dietéticos como os produtos fitoquímicos e diferentes ofertas de energia para vacas leiteira durante o período de transição podem ser utilizados como estratégia para modulação imunológica na tentativa de aumentar o consumo. Os fitoquímicos parecem atuar, melhorando a capacidade oxidante dos hepatócitos, reduzindo os ácidos graxos não esterificados e aumentando o consumo. Os óleos essenciais podem promover um efeito semelhante ao da monensina, sendo este um produto sintético de baixa aceitação pública. Entretanto existem controvérsias em relação aos fitoquímicos e a capacidade de redução das espécies reativas e o aumento das enzimas antioxidantes como potenciais imunomoduladores da saúde durante o período de transição.

Ainda não existem estudos que demonstram a relação entre o consumo pré parto e a retomada do consumo pós parto, relacionando o fator estresse oxidativo em animais da raça Girolando e Jersey. Essas



informações podem ser importantes nos trópicos e subtropicais, como por exemplo em países como o Brasil, país que ocupa a quarta posição mundial em produção de leite, animais Girolando são responsáveis por aproximadamente 80% do leite produzido.

A presente tese foi dividida em dois estudos com o objetivo de avaliar estratégias alimentares fornecida a vacas de distintas composições raciais para reduzir o estresse oxidativo durante o período de transição e aumentar a retomada do consumo pós parto. No primeiro estudo foi avaliada a utilização de extratos de plantas para vacas Jersey durante o período de transição e o segundo envolveu a comparação de animais da raça Holandês e Girolando F1 submetidos a dois planos nutricionais no pré parto.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Consumo de matéria seca durante o pré parto e sua relação com o consumo e a produção pós parto

Durante os dias que antecedem o parto, pode ocorrer redução no consumo de matéria seca (CMS), que é mais gradual para novilhas do que para vacas, e pode estar ligada ao aumento de hormônios como o estrógeno e corticóides ou a restrição de espaço para o crescimento fetal (Ingvarsen et al., 2000). A duração e magnitude do declínio de consumo parecem depender do grupo genético e do provimento de energia, que afetam a quantidade e a velocidade de mobilização das reservas corporais (Drackley & Cardoso, 2014; Akbar et al., 2015) e da inflamação (Lange et al., 2016; Vailati-Riboni et al., 2017). O consumo médio nos 21 dias antes do parto é de 1,88% e 1,69% do peso corporal de vacas e novilhas Holandês respectivamente. A redução do consumo de novilhas antes do parto é cerca de 1,3% do peso corporal (PC) enquanto para vacas em lactação a diminuição do consumo pode atingir ao equivalente a 1,7% do PC sete dias antes do parto (Block et al., 2010).

Nos últimos dias de gestação, há um aumento nos níveis de cortisol secretado pelo feto o qual é responsável pela sinalização do processo do parto. O aumento nos níveis circulantes de cortisol coincide com um aumento nos níveis de estrógenos e com o término da atividade luteal pelo corpo lúteo e placenta. Cortisol é um hormônio esteróide que apresenta atividade catabólica no tecido adiposo, o que pode estimular a atividade de enzimas lipolíticas nesse período. Além disso, cortisol aumenta gliconeogênese hepática relacionada ao dramático aumento nos níveis de glicose sanguínea no dia do parto (Grummer, 1995). Essas alterações endócrinas que sinalizam o processo do parto podem ser os fatores que aumentam a mobilização de tecido corporal. Grummer (1993) observou que o aumento nos níveis de estrógeno nos dias que precedem o parto pode aumentar a infiltração de triglicerídeos no fígado.

Após o parto, quando balanço de energia torna-se negativo, há acréscimo na taxa de lipólise e decréscimo na lipogênese, e o resultado final é o aumento na hidrólise de triglicerídeos pela enzima lipase sensível ao hormônio (LSH) e liberação de glicerol e ácidos graxos livres (AGL). Essa mobilização de reservas corporais poderá ser mais intensa, dependendo do escore de condição corporal, e ocorrerá aumento dos níveis de ácidos graxos não esterificados (AGNE) e corpos cetônicos circulantes, como acetoacetato,  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) e acetona, o que pode levar ao desenvolvimento de esteatose hepática e cetose (Santos et al., 1998; Corrêa et al., 2010).

O monitoramento do escore de condição corporal (ECC) é uma ferramenta utilizada como forma de reduzir os casos de cetose no pós parto. Porém Drackley et al. (2014) mostram que talvez seja necessário observar outros aspectos além do ECC no pré parto, ao estudarem o efeito do aporte energético no pré parto. Embora esses autores não tenham observado diferenças estatísticas para o ECC e peso de carcaça entre os grupos, os mesmos verificaram diferenças no peso corporal, que foi atribuído à diferença na deposição de gordura nas vísceras e que o processo de lipólise pós

partopoderia ser maior pelo excesso de gordura visceral ocasionado pelas dietas com maior aporte de energia que o recomendado para atender às exigências dos animais.

Existe uma recomendação encontrada na literatura científica (Block et al., 2010; Roche et al., 2013) de maximizar o consumo durante as últimas semanas do período pré parto, adaptando as vacas às dietas com alta quantidade de concentrado no pós parto, e, por sua vez, reduzindo a cetose e outras desordens metabólicas (Holcomb et al., 2001). O NRC (2001) cita que: “Por causa da alimentação com dietas mais densas em energia no pós parto e o reduzido consumo de MS no pré parto, pode ser aumentado com uso de carboidratos rapidamente fermentáveis na dieta pré parto”.

Entretanto estudos mais recentes indicam que o excesso de consumo de energia em relação às exigências dos animais durante o período seco pode diminuir o consumo no pós parto (Dann et al., 2006; Douglas et al., 2006; Janovick & Drackley, 2010); apresentar um aumento mais lento no consumo no pós parto em vacas que já estavam supercondicionadas no pré parto (Hayirli et al., 2011) e levar a um balanço energético mais negativo no pós-parto, induzido principalmente pelo aumento da produção de leite, enquanto que o consumo ainda está deprimido (Gruber et al., 2014). Segundo Allen et al., (2009), dietas com alta proporção de concentrado podem causar acidose subaguda durante o pré parto. Esses mesmos autores ressaltam que a rápida fermentação do amidocoincidente com a produção de AGNE, o que pode diminuir o consumo de acordo com a teoria da oxidação hepática.

Pesquisas utilizando animais tanto em confinamento como em pastejo (Butler et al., 2011; Janovick et al., 2011; Vicker et al., 2012, Ji et al., 2012) demonstraram que dietas com alta quantidade de volumoso no período final do pré-parto têm reduzido os casos de doenças como a cetose e esteatose hepática. Limitar a ingestão de energia no pré-parto, atendendo as exigências nutricionais, melhora o equilíbrio de energia reduzindo as concentrações plasmáticas de AGNE e BHB e impulsiona a ingestão de matéria seca (Douglas et al., 2006; Dann et al., 2006; Drackley & Cardoso, 2014) após o parto.

O aumento da proporção de volumoso na dieta três semanas antes do parto pode viabilizar o aumento da ingestão de alimentos sem exceder o necessário ao atendimento nutricional. O consumo diário de matéria seca no pré-parto dessas vacas é menor em comparação as vacas que recebem dietas com maior teor de amido. Porém, os defensores dessa estratégia reportaram que a diminuição do consumo nos dias anteriores e posteriores ao parto é menos pronunciada na dieta com alto teor de forragem. Tais dietas parecem ser capazes de reduzir a incidência de deslocamento de abomaso entre outras doenças metabólicas características do início da lactação. Uma preocupação é que a alteração de uma dieta pré-parto com menor teor energético para uma dieta de lactação de alto teor energéticopoderia provocar acidose ruminal. Entretanto, essas dietas aparentemente não aumentaram a incidência de acidose ruminal (Roche et al., 2013).

O consumo de matéria seca durante o final do período seco se torna de extrema importância, pois impacta a retomada do consumo após o parto (Roche et al., 2013). A retomada do consumo nas primeiras 4 semanas

pós parto, poderá minimizar o balanço energético negativo (Gerloff, 2000; Hayirli et al., 2002; Gruber et al., 2014).

O mecanismo que causa a retomada do consumo no pós parto ainda não está totalmente explicado mas se sabe que o volume de leite produzido durante o período pós parto não é somente devido ao melhoramento genético para maior produção de leite; o eixo somatotrópico parece influenciar diretamente a produção de leite (Lucy et al., 2001). O hormônio do crescimento (GH) promove a mobilização de lipídios do tecido adiposo (Etherton & Bauman, 1998). No entanto, o receptor da concentração de GH no tecido adiposo é, pelo menos em parte, controlado pela insulina (Rhoads et al., 2004). Durante o período do parto, as vacas experimentam um balanço energético negativo, e apresentam resistência à insulina (Boura-Halfon & Zick, 2009) e, em consequência, os níveis de insulina não conseguem desencadear as suas ações metabólicas que poderia levar o animal de um estado catabólico para anabólico (alta insulina, alta glicose, alto IGF1, e baixo GH), direcionando maior quantidade de glicose para o fígado.

Os hormônios-chave do eixo somatotrópico tais como GH, IGF-1 (fator de crescimento insulina-1) e insulina devem coordenar as adaptações necessárias para a preservação da homeostase metabólica. No entanto, a concentração plasmática de IGF-1 e insulina no plasma permanecem baixas, diminuindo de forma concomitante após o parto, causando o aumento do GH com o desacoplamento do eixo somatotrópico (Jim et al., 2014). O aumento do GH estimula os efeitos lipolíticos, com a mobilização e metabolização dos lipídeos elevando as concentrações plasmáticas de AGNE e glicerol e a síntese de glicose hepática para satisfazer a necessidade de energia para a síntese de lactose na glândula mamária. Isso sugere que GH vá contra captação de glicose insulina-dependente e atenua a ação da insulina para diminuir a gliconeogênese (Jim et al., 2014).

A resistência à insulina conserva glicose para o processo homorrético de síntese de lactose na glândula mamária (Bauman, 1992; Hayirli, 2006). Portanto, a concentração elevada de GH aumenta a produção de leite (Block et al., 2003). A elevação da concentração de GH e a redução da concentração de IGF-1 e resistência a insulina parecem sofrer influência genética, podendo ocorrer de forma distinta para diferentes raças (Jim, et al., 2014). Zachut et al. (2013) citam que vacas propensas à grande perda de peso e vacas leiteiras com elevada produção poderiam ter características genéticas distintas relacionadas com a resistência à insulina no tecido adiposo específico, mas este assunto requer uma investigação mais aprofundada.

Lucy et al. (2001) hipotetizaram que eventos nutricionais e metabólicos durante o pré parto podem afetar drasticamente a expressão de GHR-1A (hormônio responsável pela diminuição do IGF-1), e o eixo somatotrópico (GH-IGF-1) poderia não ser desacoplado logo após o parto, minimizando o balanço energético negativo. Roche et al. (2007) reportaram que os efeitos da nutrição pré-parto sobre GH, IGF-1, glicose, insulina e AGNE não foram expressos além do período de produção de colostro, e concluíram que a ingestão de energia no pré parto não afeta a adaptação do metabolismo durante a fase inicial da lactação. Isto é consistente com o

resultados reportados de outros estudos (Holtenius et al., 2003; Roche et al., 2005), nos quais foi verificado que, no pós parto, o equilíbrio energético não foi afetado pelo nível de alimentação préparto. Entretanto Dann et al.(2005, 2006) e Douglas et al.,(2004) observaram que a superalimentação no pré-parto predispõe as vacas ao maior grau de resistência à insulina no pós-parto, alta concentração de insulina plasmática, mas não encontraram diferença de concentração para a glicose no sangue.

Existem estudos que avaliaram a interação entre o eixo somatotrópico e o gonadotrópico durante o período pós parto (Leroy et al., 2008), mas poucos consideraram a variação entre as raças em termos de partição dos nutrientes e as conseqüências dessa variação no metabolismo e desempenho reprodutivo (Leroy et al., 2008; Waters et al., 2011). Ainda poucos estudos reconheceram que vacas de diferentes raças podem lidar de forma diferente com o balanço energético negativo (Berglund et al., 1987).

Há um consenso entre todos os estudos realizados durante o período de transição que é benéfico alimentar as vacas para atender sem exceder as exigências nutricionais (Drackley & Dann, 2008), monitorando os escores de condição corporal no pré parto (Garnsworthy & Topps 1982). Garnsworthy e Topps (1982) demonstraram que os escores de condição corporal (ECC) elevados 3,5 a 4 (escala de 1 a 5) ao parto reduzem o consumo depois do parto, resultando em balanço energético negativo mais grave e sugerem que o consumo de energia pode ser uma resposta ditada pela variação de ECC. Assim, a minimização das perdas no ECC no início da lactação, evitando vacas com excesso de gordura no pré parto, pode aliviar a depressão do consumo e reduzir as perdas do ECC. Akbar et al.(2015) alocaram um grupo de 60 vacas durante o período seco em pastejo em 3 grupos conforme seu escore corporal (ECC), 3,3; 2,9 e 2,6 (escore de 1 a 5) e todos os grupos recebiam a mesma oferta energética. O baixo ECC no pré-parto (2,6) não mostrou o “desacoplamento” do eixo somatotrópico (GH-IGF-1), limitando a disponibilidade de nutrientes para a glândula mamária e reduzindo a produção de leite até a 3ª semana após o parto. O IGF-1 liga-se a receptores para promover o crescimento do tecido (Nakae et al., 2001), os quais podem limitar a disponibilidade de nutrientes para produção de leite. Vacas no grupo alto (3,3) e médio ECC (2,9) manifestaram o “desacoplamento” do eixo somatotrópico (GH - IGF-1) na 3ª e 1ª semana após o parto respectivamente, e a produção de leite foi maior. As vacas no grupo médio ECC (2,9) melhoraram seu estado inflamatório comparadas com as vacas do grupo ECC baixo e alto.

Entretanto Ji et al.(2014) demonstram que o excesso de energia fornecido no pré parto a vacas holandês levou ao acúmulo de gordura em velocidade diferente no tecido adiposo visceral e subcutâneo. Este excedente de energia influenciou a ativação de vias de resposta inflamatória no tecido adiposo visceral, mas não no subcutâneo, demonstrando que embora não seja visível na atribuição de ECC, algumas vacas poderiam estar suscetíveis a respostas inflamatórias exacerbadas (Janovick & Drackley 2010).

Os resultados de algumas pesquisas quanto à importância do consumo MS nas semanas que antecedem o parto e o volume de leite produzido no pós-parto, demonstram que o aumento do nível da alimentação

associado ao aumento de escore de condição corporal (ECC) incrementa a produção de leite (Ingvarsen & Andersen, 2000; Overton & Waldron, 2004; Akbar et al., 2015), mas exacerba o balanço energético negativo e suas conseqüências (Gruber et al., 2014).

Restrições severas de energia durante os 21 dias pré parto, como por exemplo, forencimento de 65% da exigências de energia recomendada pelo NRC (2001), resultaram em menor produção de leite durante a segunda semana pós parto e uma tendência para menor produção de leite até 7 semanas após o parto para vacas Holstein-Friesian. O efeito desta restrição de energia causa redução de 5% na concentração de gordura e proteína do leite durante a 2ª e 3ª semana pós parto (Roche et al., 2016), resultado semelhante aos relatado por Roche (2007; 2005) em que as vacas consumiram 51 e 56% dos requisitos de energia metabolizável diariamente (Roche et al., 2016).

Holcomb et al., (2001), estudando vacas da raça Holandês, multíparas em confinamento recebendo dieta restrita de 8,2 kg MS/dia e *ad libitum*, Salmazo et al.,(2012) utilizando vacas mestiças em pastejo com ofertas de 0% do PC (controle), 0,5% do PC e 1% do PC e Roche et al., (2013) utilizando vacas em pastejo Holstein-Friesiane Holstein-FriesianxJersey multíparas de diferentes grupos de ECC,verificaram ausência de efeito de maior consumo de MS no pré-parto sobre a subsequente produção de leite, relatando que o consumo de MS no pré-parto foi menos importante quando as vacas foram bem alimentadas no pós-parto.As vacas com restrição no consumo MS anterior ao parto, geralmente aumentaram o consumo de MS e produção deleite no pós-parto, a uma taxa mais rápida do que vacas que consumiram a mesma dieta fornecida à vontade no pré-parto e pós-parto (Roche et al., 2007). Esses autores atribuíram esses resultados ao ganho compensatório, em que há maior desempenho do animal após um período de restrição de nutrientes (principalmente energia), em relação aos que não sofreram restrição (Ford Junior & Park, 2001). A produção deleite foi maior para as vacas alimentadas com um baixo nível de energia pré-parto e alto nível de energia no pós parto (Gruber et al., 2014).

## **2.2 Histórico da raça e metabolismo dos animais Girolando durante o período de transição**

O Brasil ocupa o 4º lugar na produção mundial de leite, mas apresenta uma das piores produtividades entre os países produtores de leite (FAO, 2014). De acordo com Pereira (1998), esta baixa produtividade é ocasionada pelo uso de animais sem padrão racial definido e inadequados sistemas de manejos utilizados na maioria dos sistemas de produção do país. Neste contexto em 1978 foi criado o programa procrusa, onde foram coletadas informações para direcionar as normas para formações de animais Girolando- Gado Leiteiro Tropical com 5/8 de sangue Holandês e 3/8 de sangue Gir, sendo somente oficializada em 1996 como raça pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA.Este grau de sangue foi fixado através de pesquisas que demostram que o cruzamento  $\frac{5}{8}$  Hol +  $\frac{3}{8}$  Gir foi o mais expressivo em termos de produção leiteira (ABCG, 2014).O direcionamento de programas genéticos para acasalamentos de animais  $\frac{5}{8}$

Hol +  $\frac{3}{8}$  Gir, e a utilização do uso de tecnologias como o testes de progênie e recentemente a utilização de avaliações genômicas (Silva et al., 2017) para a seleção de animais mais produtivos, resistentes e férteis faz com que animais do cruzamento Holandês x Gir se tornem cada vez mais atraentes para produtores de leite da América do Sul (ABCG 2014).

Ainda assim a elevada variabilidade genética presente nas demais composições genéticas formadoras da raça Girolando, permanece devido à facilidade de adaptação ao clima quente e a sua maior resistência a parasitas quando comparado a animais *Bos taurus* (Silva et al., 2017). Estes fatos contribuíram para que atualmente aproximadamente 80% da produção de leite no Brasil é atribuída aos animais do cruzamento das raças Holandês x Gir (Silva et al., 2017).

Apesar desta grande contribuição para a produção de leite no Brasil, trabalhos que relacionem as diferenças de metabolismo de animais da raça Holandes e Girolando ainda são escassos (Laguna et al., 2017). Fatores intrínsecos e extrínsecos como idade ao parto, peso ao parto, mérito genético para produção, nível de alimentação, atividade e condições ambientais tem influencias diretas sobre o metabolismo dos animais.

Animais taurinos apresentam maior deposição de gordura visceral, quando comparado a animais *Bos indicus* que apresentam maior deposição de gordura subcutânea e menor tamanho e peso de órgãos internos, assim como uma menor reciclagem de proteína. A gordura visceral pode ser metabolizada de forma mais rápida e em maiores quantidades que a gordura subcutânea (Thompson et al., 1983).

No início da lactação, a partição de nutrientes nas raças taurinas prioriza a produção de leite em detrimento da manutenção da condição corporal ocasionando maior severidade do balanço energético negativo (Gaugnard et al., 2012), enquanto nas raças zebuínas, a produção de leite muitas vezes não é priorizada e o balanço energético negativo torna-se imperceptível, não sendo raro observar ganho de peso logo após o parto (Borges et al., 2015).

A resposta para os estímulos adrenérgicos que causam a lipólise é maior para vacas taurinas de alta produção. Vacas zebuínas com adequado escore corporal ao parto parecem apresentar um balanço energético negativo de curta duração, menor magnitude com menor mobilização de reservas corporais comparado com vacas taurinas (Lage et al., 2015). Barsulli et al. (2007) observaram maiores concentrações de IGF-1 e insulina em vacas Girolando F1 no pós parto quando comparado a animais Holandês, e sugeriram que estes animais provavelmente não teriam o desacoplamento do eixo somatotrópico. As perdas de peso característicos do período pós partosão significativas na primeira semana após o parto para animais zebuínos. Parece que estes animais demonstram grande capacidade de adaptação ao BEN ao disponibilizarem glicose para a circulação por meio da gliconeogênese.

Na comparação de animais Holandês com animais mestiços F1 no período de transição, foi demonstrado que as concentrações de glicose foram maiores para animais F1 assim como a enzima metilmalonil-coa mutase (enzima responsável pela entrada do metilmalonil-coa no ciclo de Krebs para

formar succinil-coa). A maior quantidade desta enzima está ligada ao processo de distribuição de glicose para os tecidos e redução do processo homeorrético de direcionamento da glicose preferencialmente para glândula mamária (Laguna et al., 2017). Na comparação do metabolismo de animais da raça Gir e Girolando F1, as concentrações de AGNE apresentaram-se maiores no pré parto para animais Girolando F1, já as concentrações de glicose para animais F1 a partir do 4º dia pós parto apresentam-se menores (Lage et al., 2015). Novilhas Girolando, parecem permanecer em um patamar intermediário com relação às exigências nutricionais de manutenção e com partição de nutrientes após o parto mais próximo ao padrão metabólico observado nas taurinas (Borges et al., 2015), sugerindo que o mérito genético para produção de leite pode ser um dos fatores causais para as principais diferenças metabólicas entre as raças no período de transição.

A produção média de leite por lactação para animais Girolando em 2016 foi de 5.239 kg, sendo a duração da lactação média de 242 dias e o número de lactações de 5.007 (Silva et al., 2017). O pico de produção ocorre da 4ª a 7ª semana para animais Girolando F1 (Vivenza, 2012). Dois fatores muito importantes que interferem diretamente na produtividade das vacas Girolando F1 são o processo de amansamento e a adaptação das fêmeas ao sistema de produção e à sala de ordenha antes do primeiro parto. Nesses quesitos, as novilhas com maior grau de sangue Zebu merecem atenção especial. A baixa produtividade na primeira lactação é justificada pelo fato das primíparas se encontrarem em fase de crescimento, com menor volume de úbere. O temperamento e a não adaptação aos sistemas de ordenha (mecanizada, balde ao pé ou manual) contribuem para o menor desempenho produtivo das primíparas Girolando F1 (Borges et al., 2015).

### **2.3 Sistema Imune durante o período de transição**

Estudos (Bertoni et al., 2008; Trevisi et al., 2010, 2012; Farney et al., 2013a; Yuan et al., 2013; Winkler et al., 2015) têm demonstrado claramente que as vacas experimentam algum grau de inflamação sistêmica vários dias após o parto. A inflamação é uma ferramenta chave usada como um fator de ativação para a adaptação do sistema imune (Newton & Dixit, 2012). A magnitude e provavelmente persistência do estado inflamatório varia muito entre vacas, e o grau desta inflamação pós-parto está ligado diretamente com o aumento do risco de doenças e diminuição da produção de leite (Bradford et al., 2015).

A inflamação começa ainda no pré parto, em resposta aos estímulos causados pelo processo de parto, como o aumento da expressão e da liberação de mediadores inflamatórios incluindo citocinas, quimiocinas, moléculas de adesão, eicosanóides e proteínas de fase aguda (Newton & Dixit, 2012; Qu et al., 2014). A haptoglobina (Hp) se elevou no soro próximo ao parto, mesmo em vacas aparentemente saudáveis, porém vacas com doenças ou dificuldades de parto apresentaram maiores concentrações de Hp em comparação com os animais saudáveis (Qu et al., 2014). Vacas com perda de ECC durante os últimos 21 dias do pré parto apresentaram aumento de citocinas positivas em relação a vacas sem perdas de ECC (Montagner et al., 2017).



A importância de algumas proteínas de fase aguda em resposta à inflamação é pouco clara, mas eles ganharam generalizada aceitação como marcadores de inflamação (Ceciliani et al., 2012), especialmente as citocinas tais como o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF), as interleucinas IL-1 $\beta$ , e IL-6, produzidas por diversos tipos de células, especialmente macrófagos e mastócitos. Elas desempenham um papel importante na resposta inflamatória de leucócitos de ativação e células endoteliais, bem como desencadeiam a resposta de fase aguda (Bannerman et al., 2009). As proteínas de fase aguda positiva, como Hp, ceruloplasmina, proteína soro amilóide A (SAA) e a proteína C-reativa, produzidas principalmente no fígado, são geralmente encontradas em pequena quantidade na corrente sanguínea em condições normais, mas se elevam durante a inflamação sistêmica. Ao mesmo tempo, outras proteínas normalmente sintetizadas pelo fígado (por exemplo, albumina) reduzem sua concentração e, por conseguinte, são por vezes conhecidos como reagentes de fase aguda negativos (Ceciliani et al., 2012; Trevisi et al., 2015).

Estas moléculas formam complexas redes reguladoras para incentivar o fluxo sanguíneo para o tecido infectado, infiltração de células do sistema imune e ativação de respostas sistêmicas, incluindo aumento da temperatura corporal e da frequência cardíaca (Dantzer & Kelley, 2007) e modificação da síntese hepática. Os efeitos negativos podem ser comprometimento do equilíbrio energético, redução da ingestão de alimentos (Kasimanickamet et al., 2013) e aumento do gasto energético (Bertoni et al., 2009; Trevisi et al., 2016), podendo levar ao catabolismo (perda de peso, perda muscular) e ao aumento da incidência de doenças durante o período próximo ao parto (Trevisi et al., 2015). Uma forte correlação positiva entre as proteínas de fase aguda (Hp e SAA) e indicadores de lipomobilização (BHB e AGNE) foram relatados por Tothova et al. (2014), suportando a suposição de que os distúrbios metabólicos podem estar associados com inflamação subclínica (Ametaj 2005b). Zhang et al. (2016) avaliaram vacas com cetose no pós parto e notaram que a concentração de IL-6, TNF e Hp não se elevaram apenas na semana do diagnóstico da doença, mas também nas semanas -8 e -4 pré parto, o que indica a presença de uma condição inflamatória, podendo contribuir para os casos de cetose pós parto.

Pesquisas em pessoas indicam que os leucócitos inflamatórios migram para as membranas placentárias e causam corioamnionite (inflamação das membranas fetais tanto maternas como fetais (Drackley, 1999)). Vacas que tiveram doença uterina apresentaram maior magnitude de balanço de energia negativo, aumento dos níveis séricos de marcadores da inflamação, maior concentração de glicose no sangue no parto e apresentaram menor concentração de glicogênio nos níveis intracelular dos neutrófilos (Contreras et al., 2012).

O fornecimento de dietas com alta densidade energética, fornecendo cereais de elevada degradabilidade ruminal, pode causar a imunossupressão, por estimulação da produção de TNF-alfa no plasma e a liberação de lipopolissacarídeos (LPS) e endotoxinas ocasionada pela lise ocorrida nas bactérias gram- negativas, causando reação inflamatória (Kushibiki et al., 2000; Zebeli et al., 2009; Dong et al., 2011) e a transferência

de endotoxinas para o sangue, já que estas possuem grande capacidade de circulação sistêmica podendo passar pela integridade da barreira intersticial (Ametaj et al., 2002).

A redução no nível de glicose observado após o parto pode ser a causa da imunossupressão. Os macrófagos e granulócitos são dependentes da absorção de glicose exógena e glicogênio intracelular para armazenar a energia necessária para a quimiotaxia, fagocitose, e morte microbiana (Weisdorf et al., 1982). Karnovsky et al. (1975) observaram o aumento de 4 vezes no uso da glicose durante a fagocitose em macrófagos ativados comparado com o sistema imunológico não ativado. A extensão do consumo de glicose *in vivo* pelo sistema imunológico é difícil de avaliar devido à distribuição onipresente e flutuante de células imunes e alterações específicas do órgão na sensibilidade à insulina. Contudo, a melhor compreensão do seu impacto na bioenergética é um pré-requisito para o desenvolvimento de estratégias destinadas a minimizar perdas de produção em animais imunoativados (Kvidera et al., 2017). A hiperglicemia pode ser mediada por aumento do nível de cortisol em torno do parto simultâneo ao aumento da resistência à insulina após o parto, o que coloca a insulina como moduladora da resposta celular imune (Galvão et al., 2011). Kvidera et al. (2017) estimam que o sistema imune ativado usa aproximadamente 1,092g de glicose no período de 720min. Em uma base metabólica, a necessidade de glicose é de aproximadamente 0,66g/kg de peso corporal metabólico/h, que é comparável aos dados gerados em outros experimentos de Kvidera, utilizando novilhos em crescimento e suínos (1,0 e 1,1 g/kg de peso metabólico/h, respectivamente).

O aumento do consumo de MS durante o período pós parto, além de minimizar o balanço energético negativo, parece contribuir com a ativação da resposta imune inata. Mc Carthy et al. (2016) ofertaram a mesma dieta pré parto e dietas com alta e baixa degradabilidade do amido no pós parto observaram que as vacas com baixo consumo de MS no pré parto e baixo ECC não conseguiram apresentar resposta imunológica adequada durante o periparto, acarretando em diminuição do desempenho produtivo em relação as vacas que inicialmente apresentaram baixo consumo de MS no pós parto, mas foram aumentando seu consumo após o 7º dia de lactação.

Os ECC pré parto parecem influenciar diretamente no grau de inflamação durante o período de transição. Vacas com alto escore de condição corporal ao parto recebendo dietas que aportaram 75% e 125% das recomendações de energia (NRC,2001) apresentaram maior expressão de genes relacionados à inflamação (Vailati-Riboni et al., 2016). No pós parto, a lipólise característica deste período em vacas lactantes foi mais acentuada em ECC elevados ao parto (Zhang Guanshi et al.,2016) o que pode levar ao estresse metabólico, aumento dos genes relacionados à inflamação e redução da resposta do sistema imune inato (Lange et al., 2016; Crookenden, et al., 2017; Montagner et al., 2017), através de dois mecanismos (Contreras et al., 2017). Os ácidos graxos e outros produtos lipolíticos são potentes ativadores de vias inflamatórias em células mononucleares, linfócitos e polimorfonucleares, e, quando em excesso nos hepatócitos, prejudicam as respostas dos linfócitos e neutrófilos, reduzindo sua capacidade de eliminar

os agentes patogênicos (Scalia et al., 2006). Entretanto Rauchhasu et al. (2000) lembram que a lipogênese de triglicerídeos, em um sistema imunológico não imunossuprimido contribui para o aumento da secreção de lipoproteínas ricas em triglicerídeos, importante para a limpeza das endotoxinas da circulação sanguínea. O segundo mecanismo considera que a lipólise excessiva é um gatilho do estresse oxidativo, pois os ácidos graxos em circulação tornam-se oxidados por radicais livres e os antioxidantes se esgotam rapidamente (Khan et al., 2009). Fatores ligados à própria resposta imunológica do animal imunossuprimido podem contribuir com o aumento da lipólise. Durante a imunossupressão, o fator de necrose tumoral é liberado do tecido adiposo, ocasionando uma condição de estresse deste tecido, o que contribui para o aumento da lipólise e citocinas na circulação sanguínea (Gregor & Hotomisgil 2011).

Douglas et al. (2006) e Looor et al. (2006) estudando vacas Holandesas e Roche et al. (2005) consideram que o limite de energia metabolizável ofertado no pré parto deve ser entre 50 a 75% das exigências para reduzir os problemas de saúde no pós parto em vacas. Entretanto Roche et al. (2016) avaliando vacas Holstein-Friesian, Jersey, Holstein-Friesian x Jersey, observaram que a restrição grave (<70% das exigências de energia metabolizável) durante 21 dias antes do parto, aumentou o risco de doença no início da lactação e reduziu a produção de leite. Por outro lado, o aumento da oferta de energia acima das exigências (NRC, 2001) resultou na alteração dos genes relacionados à resposta imune e prejudicou a atividade de fagocitose destas células (Crookenden et al., 2017) .

Outros potenciais contribuintes para a inflamação ainda no pré parto, observados em limitados estudos com roedores, podem ser o estresse psicossocial, muitas vezes induzido pelo isolamento ou imobilização (Depke et al., 2009). Em vacas sob estresse térmico foi detectado aumento nas citocinas inflamatórias, causando estresse oxidativo e apoptose de hepatócitos (Tao et al., 2013; Zhang et al., 2014).

#### **2.4 Estresse oxidativo em bovinos de leite durante o período de transição**

Uma série de estudos relataram níveis variáveis de estresse oxidativo durante o período de transição em ovelhas (Rizzo et al., 2008), vacas leiteiras (Colitti & Stefanon 2006; Liu et al., 2013; Stefanon et al., 2005; Winkeler et al., 2015) e cabras leiteiras (Celi et al., 2008, 2010). No período de transição o estresse fisiológico associado à diferenciação rápida de parênquima secretor, crescimento intenso das glândulas mamárias e o início da síntese e secreção abundante do leite são acompanhados por uma alta demanda de energia e aumento da demanda de oxigênio (Gitto et al., 2002). Esse aumento na demanda de oxigênio promove a produção de espécies reativas de oxigênio ou radicais livres (ROS), com danos nos níveis celulares e tecidual, prejudicando o metabolismo normal e fisiológico (Trevisan et al., 2001). O seu controle é efetuado por sistemas de defesa de antioxidantes celulares (Sharma et al., 2011).

As vacas leiteiras parecem ter maior estresse oxidativo e baixa concentração de antioxidantes de defesa logo após o parto e durante a fase

inicial da lactação, quando comparadas com vacas gestantes e não lactantes. Isso parece ser o motivo do aumento na susceptibilidade às doenças de produção, por exemplo, mastite, metrite, retenção de membranas fetais etc. (Abuelo et al., 2015) e outros problemas de saúde (Sharma et al., 2011) acarretando na redução na produção leiteira (Gabalet al., 2004).

Durante o início da lactação, o organismo sofre uma adaptação para aumentar a entrega de AGNE para o fígado, ocorrendo aumento na capacidade de oxidação peroxisomal (Abuelo et al., 2015), para aumentar capacidade de oxidação dos hepatócitos. O primeiro passo nesta via, no entanto, produz peróxido de hidrogênio em vez de nicotinamida-adeninadinucleótido (NADH), o que contribui para a produção de ROS em maior medida do que oxidação mitocondrial (Schönfeld & Wojtczak, 2008). O peróxido de hidrogênio pode difundir para fora das mitocôndrias e pode reagir com o fator de transcrição, fator nuclear kappa B (NFkB) normalmente localizado no citoplasma. O NFkB está envolvido em respostas celulares aos estímulos de citocinas e ROS. Uma vez ativado, se translocará ao núcleo em resposta à acumulação de ROS, onde pode interagir com promotores de genes que regulam a expressão de genes pró-inflamatórios (Mittal et al., 2014), tornando o ROS um importante preditor da resposta inflamatória inata (Sordilo & Mavangira et al., 2014).

O aumento da produção de ROS em vacas no início de lactação, juntamente com o aumento da concentração de AGNE aumenta a formação de peróxidos de lipídios, e pode causar lipólise extra, contribuindo para níveis mais elevados de AGNE no período de transição (Sordillo & Raphael, 2013) e entrando em um ciclo vicioso de lipólise e produção de ROS (Abuelo et al., 2014). Danos no tecido hepático e o aumento do estresse oxidativo apresentam relação positiva com os níveis de alfa-cetoácidos em vacas cetóticas. O fornecimento de alfa-cetoácidos aumenta o teor de ROS e o estresse oxidativo provocando a apoptose dos hepatócitos (Du et al., 2017). Alguns estudos *in vitro* já tinham demonstrado que altos níveis de BHB poderiam aumentar a quantidade de ROS e induzir o estresse oxidativo, causando apoptose dos hepatócitos e resposta inflamatória nas vacas leiteiras (Shi et al., 2014, 2015).

Dessa forma, os escores de condição corporal excessivos no pré parto estão fortemente ligados ao aumento do ROS. Contreras et al. (2012) mostram que as concentrações cada vez maiores de AGNE aumentaram a produção de ROS nas células, mas tiveram efeitos mistos sobre mediadores inflamatórios, incluindo a redução de expressão de algumas citocinas inflamatórias. Entretanto Sordillo & Aiteken (2009) demonstram que há grande possibilidade que o estresse oxidativo durante o período de transição possa ser uma das principais causas subjacentes da baixa imunidade. A produção de quantidades baixas a moderadas de ROS é essencial para a regulação dos processos celulares normais incluindo aqueles que regulam a inflamação (Sordilo & Mavangira, 2014).

A atividade de biomarcadores de estresse oxidativo pode ser influenciada pela nutrição e fase da lactação (Bernabucci et al., 2002). Níveis elevados de amido na dieta no início de lactação causaram aumento do estresse oxidativo, possivelmente devido às alterações celulares relacionadas

à fosforilação oxidativa. Os altos níveis de LPS provenientes destas dietas podem estimular as células de Kupffer e neutrófilos a produzir ROS. O recrutamento de fagocíticos leva a uma superabundância de ROS ou ao prejuízo do estado antioxidante (Mier-Cabrera et al., 2011; Guo et al., 2013). Os níveis elevados de ROS induzem a peroxidação lipídica, mudanças estruturais de proteínas e as quebras de cadeia dos ácidos nucleicos, o que danifica células e organelas, alterando a integridade e função da membrana celular e induz a apoptose (Palit et al., 2015)

Acredita-se que a inflamação disfuncional é considerada a ligação entre o aumento da incidência de infecção e distúrbios metabólicos (Sordillo & Raphael, 2013). A melhor compreensão de como esses processos adaptativos afetam o estresse metabólico será útil para estabelecer estratégias de controle para a prevenção de doenças, e, neste contexto, o estresse oxidativo pode ser o elo entre metabólitos e inflamação em vacas leiteiras durante a transição (Sordillo & Mavangira, 2014). O uso de aditivos estimuladores da produção e/ou atividade enzimática anti-oxidante na alimentação de vacas durante o período de transição poderia contribuir para melhor o estatus anti-oxidante dos animais, com potencial efeito benéfico sobre a sua saúde (Sordillo et al., 2016; Drong et al., 2016).

## **2.5 Fitoquímicos para bovinos de leite**

Os fitoquímicos são substâncias químicas, biologicamente ativas com propriedades e funções terapêuticas, sendo encontrados nos extratos de plantas (Burt, 2004; Hashemzadeh-Cigari et al., 2014), apresentando função ecológica de defesa de predadores e atração de agentes envolvidos na reprodução, como insetos. Os três principais grupos de compostos bioativos secundários de plantas, e os mais estudados, são os taninos, saponinas e os óleos essenciais (Hashemzadeh-Cigari et al., 2014). O maior grupo de fitoquímicos encontrado nas plantas são os compostos fenólicos, os quais incluem os flavonóides sendo estes subdivididos em 6 classes, com destaque para as catequinas, encontradas em chás e uvas (Wein et al., 2016).

Os primeiros estudos com óleos essenciais sobre a fermentação ruminal datam de 1957, no qual foram demonstrados os primeiros efeitos dos óleos essenciais sobre a fermentação ruminal. Crane et al., (1957) verificaram que o óleo de limoneno e pineno inibiam a formação de metano entérico (CH<sub>4</sub>). Alguns anos depois, Borchers (1965) constatou que o timol inibia a desaminação ruminal. Vários estudos foram realizados com animais monogástricos demonstrando que alguns fitoterápicos ou fitoquímicos atuam como potentes agentes anticancerígenos, antibacterianos, antioxidantes e são atuantes na regulação hormonal da insulina (Michiels et al., 2010; Holzer, 2011).

Entretanto em ruminantes, parece que a degradação potencial e a modificação química pela flora microbiana no rúmen *insitu* têm sido menos investigadas até agora. Muitos estudos realizados *in vitro* geraram dados muitas vezes controversos dos observados *in vivo*, devido ao seu potencial de tamponamento contra estressores ambientais, mais propensos a adaptar-se e a recuperar de um inibidor (Hristov et al., 2012). Nesta revisão bibliográfica

apenas serão citados trabalhos com ruminantes, restringindo-se a fitoquímicos utilizados no presente estudo.

#### Oregano (*Origanum vulgare*)

O extrato de orégano é um dos fitoquímicos mais amplamente estudados (Cobellis et al., 2016) e, entre os seus principais compostos secundários, apresenta os mono terpenos carvacrol e timol, classificados como óleos essenciais (Benchaar et al., 2011). Acredita-se que a maioria dos óleos essenciais exerça suas atividades, interagindo com os processos associados à membrana celular bacteriana, incluindo o transporte de elétrons, os gradientes de íons, a translocação da proteína e outras reações enzima-dependentes (Ultee et al., 1999; Dorman & Deans, 2000). Por serem lipofílicos, possuem a capacidade de interagir com lipídios da membrana celular e das mitocôndrias bacterianas, alterando sua estrutura, tornando-as mais fluidas e permeáveis, permitindo o extravasamento de íons e outros conteúdos citoplasmáticos (Lambert et al., 2001; Carson et al., 2002). Helander et al. (1998) relataram que os compostos fenólicos do timol e carvacrol, inibiram o crescimento de bactérias gram-negativas por ruptura da membrana celular externa, pois podem interagir com a água, via pontes de hidrogênio. Assim, por difusão, essas substâncias cruzam a parede externa através dos lipopolissacarídeos ou proteínas da membrana, chegando à dupla camada fosfolipídica da parede celular interna da bactéria gram-negativa (Griffin et al., 1999).

As bactérias do rúmen são capazes de alterar a estrutura dos terpenos por saturação de ligações, remoção de oxigênio e abertura de estruturas cíclicas em suas cadeias (Malecky et al., 2009), provendo a sua passagem do rúmen, embora também ocorra absorção de compostos voláteis de terpenos através dos pulmões. Esses compostos podem ser encontrados no leite quando administrados oralmente (Lejonklev et al., 2013, 2016).

Os óleos essenciais do orégano atuam contra microorganismos causadores de mastite, quando aplicados de forma intramamária, apresentando potente efeito antimicrobiano, com redução de *S. aureus* e/ou *E. coli* em vacas (Cho et al., 2015; Lamber 2001). Foi relatada redução da produção de metano (Tekippe et al., 2011; Kolling et al., 2018), pela alteração do padrão fermentativo ruminal diminuindo a relação acetato:propionato, tornando o rúmen energeticamente mais eficiente e reduzindo a produção de CH<sub>4</sub> (Araujo, 2010), aumentando a eficiência na alimentação (Tekippe et al., 2011; Benchaar et al., 2011), podendo aumentar a digestibilidade (Silva et al., 2010).

Seus efeitos na melhora da imunidade em animais parecem ser alcançados devido à capacidade de atuar como transmissores secundários de ativação celular ou transportadores de íons (Oh et al., 2017) e, dessa forma, poderiam modificar as células imunes, incluindo macrófagos, neutrófilos, linfócitos T e linfócitos B, estimulando ou inibindo citoquinas e anticorpos (Nevius et al., 2012; Drong et al., 2016) e doando elétrons para a eliminação de radicais livres do organismo (Hashemzadeh-Cigari et al., 2014; Paraskevakis et al., 2015). Entretanto existe um numero relativamente

limitado de estudos utilizando aditivos de extratos de plantas na alimentação de vacas durante o período de transição (Drong et al., 2016).

Drong et al. (2016) avaliaram vacas de alta produção leiteira e diferentes escores de condição corporal durante o período de transição. Os autores administraram uma mistura comercial de óleos essenciais (Crina®, DSM, Basileia, Suíça) e compararam com um grupo recebendo monensina e um grupo controle. A administração de óleos essenciais e monensina não apresentou efeito protetor no fígado quando estudado as celulares metabólicas atividades, e não reduziu a concentração de BHB e AGNE. Não houve diferenças significativas na produção de radicais livres entre os tratamentos, a produção inadequada de ROS pode restringir a eliminação dos patógenos e a função como mensageiros para a modulação e recuperação da inflamação pode diminuir, não sendo detectadas alterações significativas nos hemogramas em relação a os tratamentos. Por outro lado, resultados satisfatórios durante o período de transição foram descritos por Hashemzadeh-Cigari et al. (2014), os quais forneceram um composto de óleos essenciais, contendo 60% de alecrim, 18% de casca de canela, 18% de açafraão e 4% de cravo para vacas leiteiras, e verificaram a redução de AGNE, insulina, estresse oxidativo e aumento do consumo de matéria seca, produção do leite e da concentração gordura. A utilização de óleos essenciais durante o período de transição pode atuar na imunomodulação, entretanto mais pesquisas precisam ser realizadas (Gessner et al., 2017).

#### Chá Verde (*Camellia sinensis* L.)

O extrato de chá verde é rico em polifenóis (Saeed et al., 2017), nome coletivo que abrange todos os compostos derivados do ácido ferúlico e do ácido cinâmico, principalmente o grupo denominado de flavonóides (Hampton, 1992). Os flavonóides são classificados em catequinas simples (C), epicatequinas (EC), galatoepicatequinas (ECG), epigalocatequinas (EGC), galato epigalocatequinas (EGCG) e galocatequinas-galato (GCG) (Hampton, 1992).

Dentre as catequinas, encontradas no chá verde a epigalocatequina-3-galato (EGCG) é a mais importante e possui maior velocidade de absorção, distribuindo-se por todos os tecidos e possuindo um tempo de meia vida maior, exceto quando administrada isoladamente. Essa propriedade está relacionada com a sua complexação, a competição, metabolização e interação com os demais compostos do extrato do chá verde (Chen et al., 1997). Em monogástricos tem sido demonstrado que esta catequina é fortemente ligada a processos antioxidantes, anti-inflamatório com potenciais propriedades hepato-protetoras (Chen et al., 2004; Yuan et al., 2006). Em humanos se destaca o papel do chá verde em dietas altamente energéticas, com aumento da lipase hormônio-sensível e redução das citocinas inflamatórias como a TNF-alfa em relação ao grupo controle (Liu et al., 2016).

Além das catequinas, o chá verde contém compostos como cafeína, aminoácidos (Tanaka & Kouno, 2003), metilxantinas, carboidratos, proteínas, compostos voláteis e elementos minerais e a L-teanina que melhorou a capacidade antioxidante dos hepatócitos através das atividades antioxidantes de enzimas como a catalase, glutatona reduzida e superóxido

dismutase durante o processo lesões no fígado *in vivo* e *in vitro* (Li et al., 2012; Thangarajan et al., 2014).

Os principais efeitos pesquisados na maioria dos experimentos *in vitro* com ruminantes incluem o efeito antimicrobiano e antioxidante dos extratos de chá verde sobre o metabolismo ruminal (Oh et al., 2017). Entretanto não foi determinado se os constituintes do chá verde passam para a corrente sanguínea em ruminantes (Wein et al., 2016). Estudo realizado com ovinos mostrou que a biodisponibilidade de diferentes tipos de polifenóis a partir de alecrim, uvas, citrinos ou cravos-da-índia é aumentada em ruminantes comparativamente aos animais monogástricos, provavelmente devido à hidrólise de compostos poliméricos em monómeros bioativos pela flora microbiana (Gladine et al., 2007). Corroborando, após a aplicação intraruminal de catequinas, essas não foram encontradas no plasma nem tampouco seus sulfatos ou metilatos foram encontrados. No entanto a análise HPLC revelou vários picos de compostos desconhecidos que são provavelmente produtos de degradação das catequinas contidas no chá verde (Winkler et al., 2015).

Apesar de ainda existirem poucas informações sobre o modo de ação das catequinas em ruminantes, seus efeitos podem ser observados em alguns trabalhos, como na redução da carga parasitária em ovinos (Zhong et al., 2014), efeitos pró inflamatórios no baço (Ahmed et al., 2015), redução de sólidos totais e nitrogênio uréico do leite (Santos et al., 2017).

Os poucos estudos utilizando catequinas durante o período de transição, apresentaram redução das concentrações de triacilglicerídeos, colesterol e AGNE nas semanas pós parto, aumento na produção de leite, melhorias na imunidade (Winkler et al., 2015) e redução do estresse oxidativo (Colitti & Stefanon, 2006; Liu et al., 2013). Por outro lado existem estudos que não verificaram o aumento do consumo (Liu et al., 2013; Winkler et al., 2015) e melhorias na capacidade antioxidante (Stefanon et al., 2005; Winkler et al., 2015), indicando resultados controversos em relação à capacidade de redução das espécies reativas e o aumento das enzimas antioxidantes como potenciais imunomoduladores da saúde durante o período de transição (Gessner et al., 2017).



### 3. HIPÓTESES

As hipóteses deste estudo são:

Fitoquímicos presentes nos extratos de chá verde (*Camellia sinensis L*) e do orégano (*Origanum vulgare*) reduzem o estresse oxidativo durante o período de transição e melhoram a retomada do consumo após o parto.

Vacas Girolando F1 (½ Holandês ½ Gir) apresentam respostas distintas às das vacas Holandês durante o período de transição frente a planos nutricionais distintos recebidos durante a gestação.

### 4. OBJETIVO

Avaliar o efeito de estratégias nutricionais no estresse oxidativo e na evolução do consumo de vacas leiteiras durante o período de transição.

#### 4.1 Objetivos específicos:

1. Avaliar os efeitos dos extratos de orégano e de chá verde adicionados à dieta sobre o consumo, produção e composição do leite e sobre os atributos sanguíneos, imunológicos e antioxidantes de vacas Jersey durante o período de transição.
2. Avaliar os efeitos de dois planos nutricionais durante o pré parto no consumo, na produção e composição do leite e sobre os atributos sanguíneos e antioxidantes em vacas da raça Holandês e Girolando F1 (½ Holandês ½ Gir).

## CAPÍTULO II

### EXTRATO DE CHÁ VERDE E DE ORÉGANO NA DIETA DE VACAS JERSEY DURANTE O PERÍODO DE TRANSIÇÃO, COMO POTENCIAIS AGENTES ANTI-OXIDANTES<sup>2</sup>

---

<sup>2</sup>Este capítulo é apresentado de acordo com as normas de publicação da revista **Journal of Dairy Science**

**Extrato de chá verde e de orégano na dieta de vacas Jersey durante o período de transição como potenciais agentes anti-oxidantes**

**E.F Vizzotto<sup>\*</sup>, V Fischer<sup>†a</sup>, S.C.B Stivanin<sup>\*</sup>, M.de Paris<sup>\*</sup>, L. Passos<sup>\*</sup>, D.Wernck<sup>\*</sup>**

**C. Matté<sup>‡</sup>, M.B Zanela<sup>§‡</sup>**

<sup>\*</sup>Doutoranda do Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Avenida Bento Gonçalves, 7712, 91540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

<sup>†3</sup>Professora adjunta do Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Avenida Bento Gonçalves, 7712, 91540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

<sup>‡</sup>Professora adjunta do Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Rua Ramiro Barcelos, 2600-Prédio Anexo - Floresta, Porto Alegre - RS, 90035-003

<sup>§‡</sup>Pesquisadora da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) – Clima Temperado, Rodovia BR-392, Km 78, 96010-971, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

Short title: Extratos de plantas para vacas leiteiras no período de transição

---

<sup>3</sup>Corresponding author: Vivian Fischer. E-mail: [vivinha.fischer@hotmail.com](mailto:vivinha.fischer@hotmail.com)

## RESUMO

Objetivou-se avaliar os efeitos dos extratos de orégano e de chá verde adicionados à dieta no consumo, produção e composição do leite e sobre os atributos sanguíneos, imunológicos e antioxidantes de vacas Jersey durante o período de transição. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com medidas repetidas no tempo, onde 24 vacas da raça foram distribuídas nos tratamentos controle - sem a adição de extratos vegetais (**CON**), adição de 10 gramas/dia de extrato de orégano (**EO**) e adição de 5,0 g/dia de extrato de chá verde (**ECV**). Foram avaliados o consumo, o peso corporal, ECC, metabólitos sanguíneos, hemograma, enzimas relacionadas ao estresse oxidativo além da produção e composição do leite. Os extratos de plantas não alteraram o peso e o ECC durante todo o período de transição. O consumo de MS antes do parto não diferiu entre os tratamentos. A quantidade de plaquetas foi maior no tratamento EO em relação ao CON e ECV. Após o parto, vacas recebendo EO consumiram mais NDT/kg PC<sup>0.75</sup>/dia no dia 15 em relação aos tratamentos CON. Vacas alimentadas com EO e ECV reduziram a espécie reativa DCFE no 2º dia pós parto. Houve maior produção de leite para animais do tratamento EO em relação ao ECV. O tratamento EO apresentou menor CCS em relação ao tratamento CON. O cálcio iônico foi superior nos dias 7, 9 e 11 para o tratamento EO em relação aos tratamentos CON e ECV. O extrato de orégano apresenta efeitos benéficos sobre o consumo, produção leiteira, eficiência alimentar, saúde da glândula mamária e alguns atributos hematológicos. Extratos vegetais EO e ECV podem contribuir para redução do estresse oxidativo.

**Palavras chaves:** estresse oxidativo, óleos essenciais, catequinas, produção de leite

## INTRODUÇÃO

O período de transição de vacas leiteiras é a fase de maior desafio para o sistema metabólico (Drackley et al., 2008) e imunológico (Winkler et al., 2015; Abuelo et al., 2015). Este período é marcado pela redução no consumo (Mc Carthy et al., 2016; Gruber et al., 2014) e o desencadeamento de doenças metabólicas e processos inflamatórios (Bradford et al., 2015).

A imunossupressão que ocorre no período de transição, devido ao processo do parto, aumenta a expressão e a liberação de mediadores inflamatórios (Newton e Dixit, 2012; Abuelo et al., 2015), que podem estimular os adipócitos a liberarem maior quantidade de ácidos graxos não esterificados (Gregor e Hotamisgil, 2011) e aumentar o estresse oxidativo (Schönfeld and Wojtczak, 2008). A imunossupressão do sistema imune pode reduzir o consumo (Kasimanickamet et al., 2013) e aumentar o gasto energético (Bertoni et al. 2009; Trevisi et al., 2016). A produção e a qualidade do leite também podem ser prejudicadas pelo aumento da permeabilidade das junções firmes das células epiteliais da glândula mamária (Stumpf et al., 2013) ocasionada pelas endotoxinas liberadas por citocinas (Schukken et al., 2011).

Moduladores de imunidade naturais extraídos de plantas, como os fitoquímicos, durante o período de transição podem apresentar efeitos benéficos e influenciar a saúde dos animais (Winkler et al., 2015; Drong et al., 2016). O extrato de orégano contém os monoterpenos carvacrol e timol, e tem sido utilizado pelo seu efeito antimicrobiano (Cho et al., 2015), e antimetanogênico (Tekippe et al.; 2011; Benchaar et al., 2011; Kolling et al., 2018), podendo se tornar um produto natural para redução de metano, já que produtos sintéticos tem apresentado resistência antimicrobiana. Os efeitos de

modulação da imunidade parecem ser alcançados devido à eliminação de radicais livres do organismo (Hashemzadeh-Cigari et al., 2014; Paraskevakis et al., 2015).

O extrato de chá verde é rico em catequinas (Chen et al., 1998), ligada a processos antioxidantes, anti inflamatórios com potenciais propriedades hepatoprotetoras em animais não ruminantes (Chen et al., 2004; Yuan et al., 2006; Oh et al., 2017). Além das catequinas, o chá verde contém L-theanine que melhorou a capacidade antioxidante de hepatócitos em ratos (Li et al., 2012; Thangarajan et al., 2014).

Existe um número relativamente restrito de estudos utilizando aditivos de extratos de plantas na alimentação de vacas durante o período de transição (Drong et al., 2016). Resultados satisfatórios foram encontrados em bovinos de leite no período de transição com a utilização de um composto de óleos essenciais, contendo alecrim, casca de canela, açafraão e cravo, com redução dos ácidos graxos não esterificados (AGNE), insulina e estresse oxidativo, e aumento do consumo de matéria seca, do teor de gordura e produção do leite (Hashemzadeh-Cigari et al., 2014). As catequinas reduziram as concentrações de triacilglicerídeos, colesterol e AGNE nas semanas pós parto, aumentaram a produção de leite, melhoraram a imunidade (Winkler et al. 2015) e reduziram o estresse oxidativo (Colitti M. and Stefanon B. 2006; Liu et al., 2013) em bovinos de leite. Entretanto existem estudos que não evidenciaram o aumento do consumo (Liu et al., 2013; Winkler et al., 2015) ou melhoria na capacidade antioxidante (Stefanon et al., 2005; Winkler et al., 2015) durante o período de transição. Existem controvérsias em relação à capacidade dos fitoquímicos de reduzir as espécies reativas e aumentar as enzimas antioxidantes (Gessner et al., 2017).

A hipótese do presente estudo é que os fitoquímicos presentes nos extratos de chá verde (*Camellia sinensis L*) e de orégano (*Origanum vulgare*) reduzem o estresse

oxidativo durante o período de transição e contribuem para melhorar a retomada do consumo após o parto. Assim, objetivou-se avaliar os efeitos dos extratos de orégano e de chá verde adicionados à dieta no consumo, produção e composição do leite e sobre os atributos sanguíneos, imunológicos e antioxidantes de vacas Jersey durante o período compreendido entre 21 dias pré e 21 dias pós parto. Os resultados do presente estudo irão contribuir para melhor compreender a utilização de extratos de plantas como redutores de estresse oxidativo durante o período de transição.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Descrição do local, animais e dietas*

Esse estudo foi aprovado pelo comitê de ética no uso de animais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, projeto número 29838. O experimento foi conduzido na Embrapa Clima Temperado, em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, latitude: -31.776, longitude: -52.3594 31° 46' 34" sul, 52° 21' 34" oeste. Durante o estudo, os valores médios de temperatura do ar, umidade relativa do ar e velocidade do vento foram, respectivamente,  $20,1 \pm 0,5$  °C (média  $\pm$  SEM),  $85,3 \pm 1,6$  % e  $14,2 \pm 0,9$  km/h e, a precipitação acumulada durante todo o período experimental foi de 847,0 mm.

Foram utilizadas 24 vacas da raça Jersey selecionadas previamente do rebanho experimental. Os animais foram observados desde 28 dias antes do parto até 21 dias de lactação. Os primeiros sete dias foram destinados ao período de adaptação, seguido por 42 dias de medições (período experimental 21 dias pré parto e 21 dias pós parto).

No 21º dia pré parto as vacas foram distribuídas em três tratamentos com oito animais selecionados de acordo com o escore de condição corporal, peso corporal,

número de partos. Os tratamentos foram dieta Controle (**CON**) - sem adição de extratos de plantas na dieta; extrato de orégano (**EO**) - adição de 10 g por vaca por dia de extrato de orégano na dieta e extrato de chá verde (**ECV**) - adição de 5,0 g por vaca por dia de extrato de chá verde na dieta. Durante os períodos pré parto e pós parto, todos os animais receberam as mesmas dietas basais.

Ao início do experimento, as vacas do tratamento CON estavam em média, com  $3,0 \pm 2,2$  lactações,  $444,3 \pm 9,6$  kg de PC e  $3,3 \pm 0,5$  pontos de ECC, as vacas do tratamento EO em média, com  $2,7 \pm 1,8$  lactações,  $420,3 \pm 41,6$  kg de PC e  $3,6 \pm 0,2$  pontos de ECC e, as vacas do tratamento ECV em média,  $2,5 \pm 1,5$  lactações,  $458,6 \pm 31,3$  kg de PC e  $3,6 \pm 0,2$  pontos de ECC.

Dietas formuladas e análise de nutrientes estão descritos na Tabela 1. Durante os 28 dias que antecederam o parto, todas as vacas foram mantidas confinadas em um galpão do tipo Free-Stall, com camas de borracha, recebendo dietas formuladas para atender as necessidades nutricionais considerando vacas de 420 kg, terço final da gestação e parindo um bezerro de 30 kg (NRC,2001). Nesse período, a dieta foi fornecida de forma individualizada duas vezes ao dia (07:00 hs e 16:30 hs).

Dieta pós parto: Do dia do parto até os 21 dias de lactação, as vacas foram mantidas em pastagem natural melhorada com introdução de azevém anual (*Lolium multiflorum* L.) durante o período diurno entre ordenhas e confinadas em um galpão do tipo Free-Stall durante a noite (após a ordenha da tarde até a ordenha da manhã). O concentrado foi fornecido duas vezes ao dia, antes de cada ordenha (07:00 hs e às 16:30 hs) de forma individualizada nos canzís e a silagem de milho fornecida após a ordenha da tarde (18:00 hs). A dieta pós parto foi formulada para atender as necessidades nutricionais considerando vacas de 400 kg de PC em pastejo e início de lactação,



produzindo 16 kg/dia de leite com 3,6% de gordura e consumindo 10,1 Kg/MS/dia (NRC, 2001). As vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia (07:30 hs e às 17:00 hs). Durante todo o período experimental os animais tiveram livre acesso à água.

Administração dos extratos vegetais: Os animais receberam os extratos na forma de pó, homogeneizados em 500g do concentrado fornecido pela manhã durante o período compreendido entre 21 dias pré parto até os 21 dias pós parto. O extrato de orégano (Orego Stim®) possuía uma concentração mínima de 50 g/kg, contendo 80-82% de Carvacrol, 2,5-3,0% de Timol, 3,5-9,0% de p-Cimeno e 2-5,0% de Y-Terpineno, e o extrato seco de chá verde (Seivabrazilis, São Paulo, Brazil) apresentou concentração aproximada de 56% ( $\pm 2,5\%$ ) de polifenóis.

#### ***Consumo de matéria seca, escore de condição corporal (ECC) e peso corporal (PC)***

O consumo de matéria seca foi avaliado no período entre o 7º dia antes do parto até o 16º dia após o parto. Utilizou-se óxido de cromo ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) como indicador externo da produção fecal. O marcador foi fornecido desde 12 dias antes do parto até 16 dias após o parto. O óxido de cromo foi administrado no período da manhã às 7:00 hs na quantidade de 10g/vaca/dia por via oral misturado em 500g de concentrado, e as amostras de fezes foram coletadas duas vezes ao dia, às 6:30hs e 16:30hs entre os dias 7 e 16 após o parto (Kozloski et al., 2006).

A concentração de cromo nas fezes secas foi determinada por espectrofotometria de absorção atômica (Williams et al., 1962), sendo as amostras previamente digeridas por via nitro-perclórica (Tedesco et al., 1995). Para estimar a produção fecal (PF), foi utilizada a fórmula:  $\text{PF} = \text{cromo administrado (g/dia)} / \text{cromo nas fezes (g/kg de MS)}$  de (Pond et al., 1989). O consumo de matéria seca total (IMST; g/dia) foi calculado utilizando digestibilidade in vitro pela fórmula:  $\text{CMST} = (\text{MS fecal total} - (\text{CMS$

suplemento  $\times$  (1-digestibilidade do suplemento)) / (1-digestibilidade da forragem) e o consumo de matéria seca do pasto (CMSP; g/dia) foi calculado pela fórmula:  $CMSP = (MS \text{ fecal total}) / (1\text{-digestibilidade da forragem})$  (Eloy et al., 2014).

O PC e o ECC foram avaliados semanalmente. As pesagens foram realizadas em balança eletrônica e o ECC foi atribuído por 3 avaliadores treinados, aos animais numa escala de 1-5 (Edmonson et al., 1989).

### ***Coleta de sangue e análises***

O sangue foi amostrado pela venopunção da jugular externa, no período matutino (7:00 hs) antes da oferta da dieta nos dias -7, -4, -2, 0, 2, 4, 7 e 14, colocando-se as amostras em tubos de coletas vacutainers não heparinizados. As amostras foram colocadas imediatamente em banho maria à temperatura ambiente por 30min e centrifugadas a  $1.500 \times g$  durante 10 min. Após centrifugação foi aspirado o soro, o qual foi transferido para eppendorfs e armazenado a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, as amostras foram analisadas para 1) glicose, utilizando o kit analítico LABTES- GLICOSE por ensaio enzimático calorimétrico; 2) cálcio e creatinina, utilizando respectivamente kit analítico LABTES- CALCIO para ensaio calorimétrico e LABTES- CREATININA para ensaio enzimático.

Nos dias -7, -4, -2, 0, 2, 4, 7 e 14 coletadas amostras de sangue da veia coccígea para análise do  $\beta$ -hidroxibutirato, utilizando medidor portátil em sangue fresco Freestyle® (Abbott) usando a metodologia descrita por Bach et al., (2016).

Na semana anterior ao parto e nos dias 7 e 21 do pós parto foram coletadas amostras de sangue por meio da venopunção da jugular externa em tubos vacutainers contendo EDTA, os quais foram imediatamente armazenados resfriados e levados para o ensaio utilizando o método automatizado Poch-100iy para análise de hemograma e o

método automatizado/ interfaceado xs-100i (sysmex/Roche) para análise de plaquetas utilizando a metodologia de impedância e citrometria de fluxo.

No momento da entrada dos animais no estudo (4 semanas antes da data do parto), na semana do parto e nos dias 2 e 21 pós parto foram realizadas coletas de sangue para determinação do estresse oxidativo. Uma alíquota de sangue foi coletada da veia jugular externa em tubo vacutainer heparinizado. Imediatamente após, o sangue foi centrifugado à 1.000 g por 10 minutos à temperatura ambiente. A fração do plasma foi coletada e armazenada à -80°C. Os eritrócitos foram lavados com solução salina 3 vezes. Ao final os eritrócitos foram diluídos em solução salina (1:10 v/v) e armazenados em freezer a -80°C. Foram realizadas as seguintes determinações bioquímicas: atividade da enzima superóxido dismutase (**SOD**), (Misra e Fridovich, 1972), oxidação da diclorofluoresceína (**DCF**) nas amostras de plasma e eritrócitos (Lebelet al., 1992), oxidação das proteínas no plasma por ensaio de determinação de carbonilas (**CARBO**)(Reznick and Packer, 1994), e conteúdo de grupamentos tióis (**TIOIS**)(Aksenov and Markesbery, 2001). A atividade da catalase (**CAT**) foi determinada por meio da redução na absorvância medida à 240 nm, resultado da redução na concentração do substrato dessa enzima, peróxido de hidrogênio (Aebi, 1984). A atividade da glutathiona peroxidase (**GPx**) foi determinada por meio de um ensaio indireto, através da redução da absorvância medida à 340 nm, referente à oxidação do NADPH(H<sup>+</sup>) na reação de redução da glutathiona oxidada produzida na reação da GPx (Wendel, 1981), e a concentração de glutathiona reduzida (**GSH**) foi determinada fluorimetricamente (Browne and Armstrong, 1998).

### ***Coletas e análises do leite***

O controle leiteiro individual (kg/vaca/ordenha) foi realizado até os 21 dias, através dos sensores eletrônicos da ordenhadeira automática Delaval® linha média. Coletas de amostras de leite de cada vaca foram realizadas nas ordenhas da manhã e tarde, a cada dois dias, no período entre o 5º e o 21º dias de lactação, para posteriormente se obter uma amostra composta diária de cada animal.

As amostras de leite foram resfriadas durante um período de 12 horas após a ordenha e posteriormente analisadas quanto a acidez titulável, pH, estabilidade ao etanol e cálcio iônico. A acidez titulável foi determinada por titulação com 0,1 N de NaOH (Tronco, 2010). O pH determinado por potenciometria. A estabilidade ao etanol foi determinada através da mistura de 2 mL de leite e 2mL de soluções alcoólicas com concentração de etanol de 68,70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84 e 86 % v/v em uma placa de Petri. Os resultados foram expressos como a concentração mínima de etanol na solução alcoólica em que a coagulação do leite foi induzida (Tronco et al., 2003; Zanela et al., 2009). A concentração de cálcio iônico no leite foi determinada com o uso de eletrodos seletivos Orion thermo electron corporation® (sendo um dos eletrodos de referência e o outro seletivo para cálcio iônico), através da metodologia descrita por Barros et al. (1999).

Para análise de composição química e contagem de células somáticas foi realizada uma coleta de leite semanal e a amostra de leite foi enviada refrigerada para o laboratório, onde foram determinados os teores de gordura, proteína e lactose no leite (Bentley 2000 Equipment Chaska, Minnesota, EUA). A contagem de células somáticas (CCS) foi determinada por citometria de fluxo em equipamento Somacount 300 (Bentley Instruments, Chaska, Minnesota, EUA) a partir de leite acondicionado em tubos contendo o conservante bronopol.

A produção do leite foi corrigida para energia (**PLCE**) e gordura (**PLCG**), nos dias 9, 15 e 21 após o parto, usando os valores de 3,5% para gordura e 3,2% para proteína utilizando as fórmulas:  $PLCE = [(0,3246 \times \text{kg leite}) + (12,86 \times \text{kg gordura}) + (7,04 \times \text{kg proteína verdadeira})]$  (NRC, 2001) e corrigida para 3,5% de gordura utilizando a fórmula:  $PLCG = (0,42 \times \text{kg leite}) + [16,42 \times (\text{kg gordura} \times \text{kg leite} / 100)]$  (Gaines, 1928).

### ***Delineamento experimental e análise estatística***

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com medidas repetidas no tempo (dias), com três tratamentos (n=3, dietas controle, com extrato de orégano e com extrato de chá verde) e 8 repetições (animais) em cada tratamento. Os dados foram analisados por análise de variância. A análise estatística considerou os efeitos de tratamento, dia de avaliação e a interação tratamento  $\times$  dia como efeitos fixos, e os animais e o resíduo como efeitos aleatórios, utilizando o procedimento MIXED do SAS<sup>®</sup>, versão 9.4.

Foi realizado teste de seleção de estruturas de co-variância, utilizando o critério de informação bayesiano (**BIC**). A ordem de parto, peso corporal e escore de condição corporal ao início do período experimental foram incluídos na análise como covariáveis. As médias foram comparadas utilizando o recurso LSmeans opção adjust Dunnette a interação entre tratamento e dias de avaliação foi desdobrada quando significativa a 5% de probabilidade. O efeito principal relativo a dias de mensuração não é apresentado no presente material. Os seguintes contrastes foram utilizados para análise de consumo, estresse oxidativo, parâmetros sanguíneos, hemograma, produção e qualidade do leite: controle  $\times$  extrato de orégano; controle  $\times$  extrato de chá verde e extrato de orégano  $\times$  extrato de chá verde.

Bastonetes, monócitos, e perda de peso pós parto foram analisados por análise não paramétricas utilizando o teste Wilcoxon, pois não apresentaram distribuição normal. O critério de significância para diferença significativa foi considerado como  $P \leq 0,05$  e para tendência,  $P > 0,06$  a  $P \leq 0,10$ .

## RESULTADOS

### *Consumo e peso corporal*

Durante o período pré parto, os animais consumiram em média 0,08 kg MS /PC<sup>0.75</sup>/dia ou 8,1±1,7 kg/MS/dia não diferindo ( $P > 0,10$ ) quanto ao consumo de matéria seca ou dos nutrientes entre os tratamentos, com exceção do consumo de proteína bruta (PB). Vacas suplementadas com extrato de orégano tenderam ( $P < 0,10$ ) a consumir mais PB expressa como kg/ PC<sup>0.75</sup>/dia em relação ao tratamento CON.

Durante o período pós parto, somente houve interação ( $P < 0,05$ ) entre tratamentos e dias de mensuração para a quantidade de nutrientes digestíveis totais (NDT) consumida, expresso como kg/PC<sup>0.75</sup> dia. Houve maior ingestão de NDT ( $P < 0,05$ ) nos dias 15 e 16 para o tratamento extrato de orégano em relação aos demais (Figura 1). Não foram detectadas interações significativas entre tratamento e dia de mensuração para as quantidades consumidas de MS (0,15±0,02 kg/MS/PC<sup>0.75</sup>), EM (0,08±0,01 kg/MS/PC<sup>0.75</sup>), PB (0,09±0,01 kg/FDN/PC<sup>0.75</sup>) e de FDN (0,13±0,01 kg/FDN/PC<sup>0.75</sup>). Vacas suplementadas com extrato de orégano tenderam ( $P < 0,10$ ) a consumir mais PB expressa como kg/ PC<sup>0.75</sup>/dia em relação ao tratamento CON.

Os extratos de plantas não alteraram ( $P > 0,10$ ) os valores de PC e ECC durante todo o período de transição (Tabela 3). Os animais recebendo OE tenderam a apresentar

( $P < 0,10$ ) maior peso no final do período pós parto em relação às vacas do tratamento CON. As variações de PC e ECC durante o pós parto não foram influenciadas pelos tratamentos (Figura 2).

### ***Indicadores metabólicos e função imune***

Não foram detectadas interações ( $P > 0,10$ ) entre tratamento e dia de mensuração para glicose, nitrogênio uréico, creatinina, cálcio total e beta-hidroxiacetato (**BHB**) no sangue (Tabela 4). O teor de cálcio tendeu a ser superior ( $P < 0,10$ ) para vacas do tratamento EO em relação às vacas do tratamento CON e ECV ( $p < 0,10$ ) durante o período pré parto.

Não foram detectadas interações significativas entre tratamento e dia de mensuração para os fatores hematológicos. O valor da concentração de plaquetas diferiu ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos, com maiores valores no tratamento EO em relação aos tratamentos CON e ECV (Tabela 5).

Não ocorreram interações entre tratamento e dias de mensuração ( $P > 0,10$ ) para os fatores enzimáticos antioxidantes (Tabela 6), exceto para a diclorofluoresceína (**DCFE**). Vacas alimentadas com extrato de orégano e extrato de chá verde reduziram ( $P < 0,01$ ) a espécie reativa DCFE no 2º dia pós parto em relação ao controle (Figura 3). Não foram observadas diferenças ( $P > 0,10$ ) entre os tratamentos para as demais enzimas antioxidantes.

### ***Análise físico química da produção de leite***

Houve interação ( $P < 0,05$ ) entre tratamentos e dias de mensuração para o teor de cálcio iônico (Tabela 7). Nos dias 7, 9 e 11, os valores de cálcio iônico foram superiores no tratamento EO em relação ao tratamento ECV. Diferenças entre tratamentos ( $P < 0,05$ ) foram encontradas para a produção de leite e pH, e tendências ( $P < 0,10$ ) para a

eficiência alimentar em relação às produções de leite corrigido para gordura (**PLCG/CMS**) e energia (**PLCE/CMS**). Animais que receberam EO apresentaram maior produção de leite em comparação com as vacas que receberam somente o ECV ( $P<0,05$ ). O pH do leite das vacas do tratamento EO foi mais baixo ( $P<0,05$ ) em comparação os animais do tratamento CON e ECV. Vacas suplementadas com ECV apresentaram tendência ( $P<0,10$ ) de menor eficiência alimentar comparadas com aquelas recebendo os tratamentos CON e EO.

As vacas do tratamento EO apresentaram tendência ( $P<0,10$ ) de produzir leite com menor estabilidade e com maior acidez titulável comparadas com as vacas que receberam os tratamentos CON e ECV. Vacas recebendo EO produziram leite com menor valor de CCS ( $P<0,05$ ) em comparação às do tratamento CON.

## **DISCUSSÃO**

Estudos (Bertoni et al., 2008; Trevisi et al., 2010, 2012; Farney et al., 2013a; Yuan et al., 2013; Winkler et al., 2015) demonstraram que as vacas leiteiras experimentam algum grau de inflamação sistêmica vários dias após o parto; a magnitude deste grau de inflamação é dependente do manejo adotado durante o período pré e pós parto (Lacasse et al., 2017). A intensidade da inflamação sofrida pelos animais neste período pode impactar negativamente o consumo e, conseqüentemente, a produtividade leiteira (Kasimanickamet et al., 2013; Mc Carthy et al., 2016).

O efeito benéfico do fornecimento de extratos vegetais de orégano e chá verde sobre a redução de atributos do estresse oxidativo durante o período de transição pode ser verificado em nosso estudo, especialmente em relação à redução da DCF nos



eritrócitos e, especificamente para o extrato de orégano, com a tendência de aumento da GPx . Em relação ao consumo o tratamento extrato de orégano parece ter modificado a eficiência do uso de nutrientes, ocorrendo tendência para o aumento do consumo de proteína bruta no tratamento extrato de orégano em relação ao controle no pré parto e pós parto e o aumento do consumo de NDT em vacas recebendo extrato de orégano em relação aos tratamentos controle e extrato de chá verde nos dias 15 e 16 após o parto, ou seja, ao final do período de transição.

No presente estudo não foram avaliadas a digestibilidade aparente e a produção de ácidos graxos voláteis ou de amônia no rúmen. Entretanto produtos à base de orégano têm sido utilizados como alternativas para melhorar a fermentação ruminal, a digestibilidade aparente no trato digestório e a eficiência de uso dos nutrientes (Tekippe et al., 2011; Oh e Histov 2016; Kolling et al., 2018), devido à eliminação de bactérias gram-negativas, causando aumento do proprionato e redução do acetato, reduzindo o substrato para as archaeas, produtoras de metano (Ultee et al., 2002).

A ausência de efeito do extrato de chá verde sobre o consumo total da dieta pode ter sido devido à degradação e a modificação química de polifenóis e catequinas pela flora microbiana no rúmen, ainda que esse processo pareça não estar bem elucidado (Wein et al 2016; Saeed et al., 2017). Esse resultado confirma aquele reportado por Kolling et al. (2018), os quais não encontraram efeito do fornecimento da mesma quantidade de extrato de chá verde para vacas leiteiras Holandesas× Gir entre 27 e 85 dias de lactação sobre o consumo.

O efeito positivo do extrato de orégano sobre a produção leiteira e tendência de melhor conversão alimentar em relação ao extrato de chá verde podem estar relacionados ao maior consumo de NDT ao final do período de transição. Não foi

possível estabelecer claramente a relação entre os resultados de produção leiteira e eficiência produtiva com a redução da inflamação, do estresse oxidativo e do estresse metabólico como observado por outros autores (Winkler et al., 2015; Hashemzadeh-Cigari et al., 2014; Tedesco et al., 2004), uma vez que a produção leiteira e eficiência de produção foram observados ao final do período de transição enquanto as mudanças no estresse oxidativo, como redução das espécies reativas(**ROS**) estimadas pela oxidação da DCFE foram detectadas logo após o parto (dia 2).

A ausência de diferenças entre os tratamentos quanto aos indicadores de catabolismo lipídico e mobilização de reservas corporais como o BHB pode ser devido às semelhanças de consumo de nutrientes em praticamente todo o período de transição, com exceção dos dias 15 e 16.

Os animais do presente estudo apresentaram escore de condição corporal ligeiramente mais elevado que o ideal para o momento do parto 3,0 a 3,2 pontos (escala de 1 a 5 pontos) recomendado por Roche et al., (2013 e 2009) com o objetivo de minimizar doenças durante o período de transição, para vacas Holstein Friesian e Holstein Friesian × Jersey com produções médias de 22 litros e consumo de 10,1 kg/MS no pré parto. As perdas de escore de condição corporal pós parto relativamente pequenas ( $\pm 0,19$  pontos) foram aquém do valor de 0,5 pontos, alegadamente capaz de provocar doenças metabólicas (Garnsworthy et al., 2013). Dessa forma, o fato de não se ter alterações expressivas dos metabólitos alegadamente atribuídos à mobilização tecidual pode ter sido devido ao baixo grau de inflamação sistêmica durante o período de transição devido às perdas de limitadas de condição corporal. Outro fato a ser levado em consideração é o moderado desafio metabólico motivado pela moderada produção leiteira ( $16,2 \pm 3,6$  kg).

Vários componentes de plantas com princípios ativos como eugenol e cinamaldeídos ativaram os canais receptores de potencial nos neurônios, intestinos, pâncreas, células imunes, e outros tecidos (Vriens et al., 2008; Holzer, 2011). Isto significa que os extratos de plantas poderiam atuar como transmissores secundários de ativação celular ou transportadores de íons (Oh et al., 2017), e dessa forma, modificariam células imunes, incluindo macrófagos, neutrófilos, linfócitos T e linfócitos B, estimulando ou inibindo citocinas e anticorpos (Nevius et al., 2012; Drong et al., 2016). Entretanto os efeitos dos fitonutrientes como imune-reguladores (isto é, pró ou antiinflamatórios) podem depender do desafio ao estado imune dos animais experimentais (Oh et al., 2017).

O moderado desafio imposto pela produção leiteira, observado no presente estudo, pode explicar a ausência de efeitos dos extratos vegetais sobre a maioria dos atributos sanguíneos relacionados às células imunes, com exceção da concentração de plaquetas, responsáveis pela coagulação, que apresentaram redução para o tratamento extrato de orégano, mas mantiveram-se dentro dos limites padrões para bovinos (1.40 a 400 mm<sup>3</sup>). Os resultados dos hemogramas confirmam o baixo grau de inflamação apresentado pelas vacas do estudo, com os valores médio de eritrócitos  $5,50 \times 10^3/\text{mm}^3$ , hemoglobina 9,90 g/dl, hematócrito 27,66%, leucócitos  $7,71 \times 10^3/\text{mm}^3$ , eosinófilos 7,02 %, linfócitos t 50,89% e monócitos 3,60 %, os quais situam dentro dos limites de 5 a  $10 \times 10^3/\text{mm}^3$  para eritrócitos, 8 a 15g/dl hemoglobina, 24 a 46% hematócrito, 4 a  $12 \times 10^3/\text{mm}^3$  leucócitos, 0 a 20% eosinófilos, 45 a 75% linfócitos t, 2 a 7% para monócitos (Kaneko et al., 1997; Islam et al., 2014).

Estudos apontam alguns atributos do hemograma relacionados à inflamação durante o período de transição (Sordillo and Aitken, 2009). Nos dias anteriores ao parto,

a quantidade de linfócitos e sua capacidade funcional reduzida (Kimura et al., 1999) e o número de eritrócitos aumentado (Trevisi et al., 2015) foram relacionados à maior resposta inflamatória. Segundo Jain (1993), nas vacas prenhes ocorre uma ligeira diminuição dos parâmetros do eritrograma, que permanece assim durante algumas semanas do pós-parto, devido à hemodiluição por fatores hormonais. Os valores encontrados no presente estudo, como aumento de eusínófilos e plaquetas a partir do dia 7 pós parto e redução na concentração de hemoglobinas, eritrócitos e hematócritos no período pós parto estão de acordo com a literatura citada.

A redução de espécies reativas ao oxigênio e o aumento de enzimas antioxidantes tem resultado em melhorias na imunidade (Bradford et al., 2015). Extratos de plantas parecem contribuir no aumento de antioxidantes endógenos e na redução dos radicais livres (Oh et al., 2017). No presente estudo, o extrato de orégano alterou favoravelmente, mas de forma limitada a alguns atributos do estresse oxidativo, como por exemplo, a redução da DCFE, a qual é oxidada na presença de ROS. Produtos fitoquímicos parecem agir doando elétrons para os radicais livres e induzindo a ativação de fator nuclear 2 relacionado ao eritróide 2 (**Nrf2**) que, por sua vez, leva à ativação de várias enzimas antioxidantes GHS, GPx e CAT (Na Surh, 2008). Estudos de Colitti e Stefanon et al. (2006) e Liu et al. (2013) analisaram vacas recebendo polifenóis e taninos da castanha respectivamente, Hashemzadeh-Cigari et al. (2014) composto de óleos essenciais contendo 60% de alecrim, 18% de casca de canela, 18% de açafão e 4% de cravo, e detectaram redução de espécies reativas e aumento de enzimas antioxidantes como GPx sobre o estresse oxidativo. Por outro lado, outros estudos (Stefanon et al., 2005; Winkler et al., 2015) não verificaram efeito dos extratos de plantas na redução do estresse oxidativo durante o período de transição.

A passagem de terpenos oriundos do extrato de orégano administrado oralmente a vacas para o leite foi demonstrada em alguns estudos (Lejonklev et al., 2013, 2016). No presente estudo não se analisou a presença princípios ativos ou seus metabólitos no leite. O leite das vacas recebendo extrato de orégano apresentou menores valores de CCS em relação ao controle, possivelmente devido a sua propriedade antibacteriana, uma vez que carvacrol e timol, que constituem aproximadamente 78 a 85% do extrato de orégano (Burt et al., 2004), possuem consideráveis efeitos sobre a propriedade da membrana citoplasmática, alterando a superfície celular bacteriana, o que pode inibir a adesão de bactérias às células epiteliais mamárias (Souza et al., 2013). De forma condizente, as vacas que receberam extrato de orégano produziram leite com menor pH, (Cervinkova et al., 2013), mas dentro da faixa normal. Por outro lado, a variação do pH entre de 6,5 a 6,7 do leite de vacas recebendo extrato de orégano e extrato de chá verde explica os maiores valores da concentração de cálcio iônico e a tendência dos menores valores de estabilidade no teste do álcool em relação ao controle (Machado et al., 2017).

No presente estudo, consideramos que vacas sofreram um desafio moderado devido a sua produção de leite em torno de 18 kg PLCG ou PLCE, o que talvez tenha limitado a possibilidade de encontrarmos diferenças estatísticas quanto à melhoria do sistema imune. Produções mais elevadas podem causar maiores mudanças metabólicas resultando em um sistema altamente imunosuprimido (Bradford et al., 2015), e talvez, resultados mais pronunciados do uso dos fitoterápicos sobre o sistema imunológico. Ainda assim nossos resultados mostram que os extratos de orégano e chá verde possuem capacidade de reduzir atributos do estresse oxidativo durante o período pós parto, podendo acarretar em melhorias para o sistema imunológico. O extrato de

orégano demonstra possuir efeito potencial para melhorar a produção de leite e a conversão alimentar.

## **CONCLUSÃO**

O fornecimento dos extratos de orégano e chá verde auxilia na redução do estresse oxidativo durante o período de transição.

O extrato de orégano exerceu efeito positivo sobre a produção de leite e conversão alimentar comparado ao extrato de chá verde.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pelos recursos concedidos no projeto 473562/2012-0 e bolsas de estudo e de produtividade, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelas bolsas de estudo, à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA Clima Temperado pela cessão dos animais experimentais, estrutura e colaboradores para a realização do experimento e ao sr. Ivan dos Santos, da Advet pelo fornecimento de extrato de orégano.

## **REFERÊNCIAS**

Abuelo, A., J. Hernandez, J. L. Benedito. and C. Castillo. 2015. The importance of the oxidative status of dairy cattle in the periparturient period: revisiting antioxidant

- supplementation. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 99: 1003–1016. DOI: 10.1111/jpn.12273
- Akbar, H. T., M. Grala, M. Vailati Riboni, F. C. Cardoso, G. Verkerk, J. McGowan, K. Macdonald, J. Webster, K. Schutz, S. Meier, L. Matthews, J. R. Roche and J. J. Looor. 2015. Body condition score at calving affects systemic and hepatic transcriptome indicators of inflammation and nutrient metabolism in grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 98, p.1019–1032 <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8584>.
- Bach, K. D., W. Heuwieser, and J. A. A. Mcart., 2016. Technical note: Comparison of 4 electronic handheld meters for diagnosing hyperketonemia in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99(11): 9136-9142. doi: 10.3168/jds.2016-11077
- Barros, L., N. Denis, A. González, A. Núñez. 1998. Ionic calcium related to alcohol test in milk. In: *International Conference On Production Diseases In Farm Animals*, 10., 1998, Utrecht. Proceedings... Utrecht, Netherlands.
- Benchaar, C. and H. Greathead. 2011. Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants *Animal Feed Science and Technology* 166–167 (2011) 338–355.
- Bertoni, G., E. Trevisi, X. Han and M. Bionaz. 2008. Effects of inflammatory conditions on liver activity in puerperium period and consequences for performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 91: 3300–3310.

- Bertoni, G., E. Trevisi and R. Lombardelli. 2009. Some new aspects of nutrition, health conditions and fertility of intensively reared dairy cows. *Italian Journal of Animal Science* 8: 491–518. <https://doi.org/10.4081/ijas.2009.491>
- Bradford, B. J., K. Yuan, J. K. Farney, L. K. Mamedova and A. J. Carpenter. 2015. Invited review: Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame *J. Dairy Sci.* 98:6631–665. doi: 10.3168/jds.2015-9683
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int J Food Microbiol.* 94: 223–253
- Carvalho, G.F., R.P.L. Cunha and L.R. Molina. 2002. Milk yield, somatic cell count and physicochemical characteristics of raw milk collected from dairy cows in Minas Gerais state. In: *Congresso Panamericano de Qualidade do Leite e Controle da Mastite. Anais... Ribeirão Preto.*
- Cervinkova, D., H. Vlkova, I. Borodacova, J. Makovcova, V. Babak, A. Lorencova, I. Vrtkova, D. Marosevic and Z. Jaglic. 2013. Prevalence of mastitis pathogens in milk from clinically healthy cows. *Vet Med.* 58(11):567–75.
- Chen, Z., Q. Y. Zhu, Y. F. Wong, Z. Zhang, and H. Y. Chung. 1998. Stabilizing Effect of Ascorbic Acid on Green Tea Catechins *J. Agric. Food Chem.* 46: 2512–2516
- Chen, J. H., G. L. Tipoe, E. C. Liang, H. S. H. So, K. M. Leung and W. M. Tom. 2004. Green tea polyphenols prevent toxin-induced hepatotoxicity in mice by down-regulating inducible nitric oxide-derived prooxidants. *Am. J. Clin. Nutr.* 80(3):742–51



- Colitti M and B. Stefanon. 2006. Effect of natural antioxidants on superoxide dismutase and glutathione peroxidase mRNA expression in leukocytes from periparturient dairy cows. *Vet Res Commun.* 30(1):19-27.
- Drackley, J. K. 2008. Steady as She Goes: Rethinking Dry Cow Nutrition. In: Mid-South Ruminant Nutrition Conference, Arlington, Texas. Proceedings... Texas, [s.n.]
- Drong, C., U. Meyer, D. von Soosten, J. Frahm, J. Rehage, H. Schirrmeier, M. Beer and S. D€anicke. 2016. Effects of monensin and essential oils on immunological, haematological and biochemical parameters of cows during the transition period *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* DOI: 10.1111/jpn.12494
- Edmonson, A., J. Lean, I. J. Weaver, L.D. Farver, and T. G. Webster. 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72: 68–78.
- Eloy, L.R, M. G. Rocha, L. Pötter, Á. M. F Neto, L. L. Biscaíno, M. B. Alves L. A.Graminho, S. C. B. Stivanin. 2014. Consumo de forragem por novilhas de corte recebendo farelo de arroz com e sem ionóforo *Ciência rural* v 44 n 7 <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20131135>
- Farney, J. K, L. K.Mamedova, J. F Coetzee, B. KuKanich, L. M Sordillo, S. K. Stoakes, J. E Minton, L. C.Hollis and B. J Bradford. 2013a Anti-inflammatory salicylate treatment alters the metabolic adaptations to lactation in dairy cattle. *American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*305: 110–117

- Gaines, W.L. 1928. The energy basis of measuring milk yield in dairy cows. Illinois Agricultural Experiment Station Bulletin 308: 40.
- Garnsworthy, P. C. 1987. Nutrition and lactation in the dairy cow. (46 th). University of Nottingham.
- Gessner, D. K., R. Ringseis and K. Eder. 2017. Potential of plant polyphenols to combat oxidative stress and inflammatory processes in farm animals. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 101: 605–628 DOI: 10.1111/jpn.12579
- Gregor, F. M and G.S. Hotamisligil 2011. Inflammatory Mechanisms in Obesity *Annu. Rev. Immunol.* 29:415–45.
- Gruber, L., M. Urdl, W. Obitzhauser, A. Schauer, J. Häusler and B Steiner. 2014. Influence of energy and nutrient supply pre and postpartum on performance of multiparous Simmental, Brown Swiss and Holstein cows in early lactation. *Animal*, 8(1): 58-71
- Grummer, R.R., D.G Mashek and A. Hayirl. 2004. Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet. Clin. Food Anim.* 20: 447-470
- Hashemzadeh-Cigari, F., M. Khorvash, G. R. Ghorbani, M. Kadivar, A. Riasi, and Q. Zebeli. 2014. Effects of supplementation with a phytobiotics-rich herbal mixture on performance, udder health, and metabolic status of Holstein cows with various levels of milk somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* 97:7487–7497.
- Holzer, P. 2011. Transient receptor potential (TRP) channels as drug targets for diseases of the digestive system. *Pharmacology and Therapeutics*, v. 131, p. 142–170.

- Islam R.,H. Kumar and B. B. Krishnan. 2014. Investigation on leukocyte profile of periparturient cows with or without postpartum reproductive disease Asian Pacific Journal of Reproduction 3(1): 57-63 doi: 10.1016/S2305-0500(14)60003-8
- Jain, N. C. 1993.Essentials of veterinary hematology. Philadelphia: Lea & Febiger, p.417
- Lacasse, P., N. Vanackera, S. Olliera and C. Stera. 2017. Innovative dairy cow management to improve resistance to metabolic and infectious diseases during the transition period Research in VeterinaryScienc,v.116:40-46 <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.06.020>
- Lejonklev, J., M. M. Lokke, M. K. Larsen, G. Mortensen, M. A. Petersen, and M. R.Weisbjerg. 2013. Transfer of terpenes from essential oils into cow's milk. J. Dairy Sci. 96:4235–4241.
- Lejonklev, J., U. Kidmose, S. Jensen, M. A. Petersen, A. L .F.Helwing,G.MortensenandM. K. Larsen. 2016. *Short communication:* Effect of oregano and caraway essential oils on the production and flavor of cow Milk. J. Dairy Sci. 99:1 <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-10910>.
- Li, G., Y. Ye, J. Kang, X. Yao, Y. Zhang , W. Jiang , M. Gao , Y.Dai, Y. Xin , Q.Wang ,Z.Yin and L.Luo. 2012. L-theamine prevents alcoholic liver injury throught enchancing the antioxidant capability of hepatocytes. Food chem.toxicol, 50:363-372.doi: 10.1016/j.fct.2011.10.036.

- Liu, J., S.Liu, H. Zhou, T. Hanson, L. Yang, Z. Chen and M Zhou. 2016. Association of green tea consumption with mortality from all- cause, cardiovascular diseases and cancer in a Chinese cohort of 165,000 adult men *Eur. J. Epidemiol.* 31:853-865.
- Machado, C. S., V. Fischer, M. T. Stumpf, S. C. B Stivanin. 2017. Seasonal variation, method of determination of bovine milk stability, and its relation with physical, chemical, and sanitary characteristics of raw milk. *R. Bras. Zootec.* v.46 no.4 Viçosa .<http://dx.doi.org/10.1590/s180692902017000400010>
- McCarthy, M. M., T. Yasui, M. J. B Felipe and T. R Overton. 2016. Associations between the degree of early lactation inflammation and performance, metabolism, and immune function in dairy cows *J. Dairy Sci.* 99:1–21 <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9694>
- Mulligan F.J. and M.LDoherty2008. Production diseases of the transition cow *The Veterinary Journal* Volume 176, Issue 1, Pages 3-9
- National Research Council - NRC. 2001 Nutrient requirements of dairy cattle. 7.ed. Washington, D.C.381p.
- Nevius E., P. K. Srivastava and S. Basu. 2012.Oral ingestion of capsaicin, the pungent component of chili pepper, enhances a discrete population of macrophages and confers protection from autoimmune diabetes *Mucosal, Immunology* 5: 76–86, doi: 10.1038/mi.2011.50.
- Newton K. and V.M Dixit. 2012. Signaling in Innate Immunity and Inflammations *Cold Spring Harb Perspect, Biol* 4:a006049

- Oh, J. and A. N. Hristov. 2016. Effects of plant-derived bio-active compounds on rumen fermentation, nutrient utilization, immune response, and productivity of ruminant animals *Medicinal and Aromatic Crops: Production, Phytochemistry, and Utilization*.167-186
- Oh, J.,E. H. Wall, D. M. Bravo and A. N. Hristov. 2017. Host-mediated effects of phytonutrients in ruminants: A review *J. Dairy Sci.* 100:1–10  
<https://doi.org/10.3168/jds.2016-12341>
- Paraskevakis N. 2015. Effects of dietary dried Greek Oregano (*Origanum vulgare ssp. hirtum*) supplementation on blood and milkenzymatic antioxidant indices, on milk total antioxidant capacity and on productivity in goats. *Animal Feed Science and Technology*<http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.09.001>
- Kaneko, J.J, J.W. Harvey and M.L Bruss. 1997. (eds.) *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5th ed. New York: Academic Press.
- Kasimanickamet, R. K., V. R. Kasimanickam, J. R. Olsen, E. J. Jeffress, D. A. Moore and J. P. Kastelic 2013. Associations among serum pro- and anti-inflammatory cytokines, metabolic mediators, body condition, and uterine disease in postpartum dairy cows. *Reprod Biol Endocrinol*, 11: 103. doi: 10.1186/1477-7827-11-103
- Kimura, K. J, P. Goff, Jr. M. E Kehrli and J. AHarp 1995. Phenotype Analysis of Peripheral Blood Mononuclear Cells in Periparturient Dairy Cows *Journal of Dairy Science*82 (2) : 315-319.DOI 10.3168/jds.S0022-0302(99)75238-0

- Kozloski, G. V., D. Perez, L.Oliveira, A. R Maixner, D. T Leite, M. Maccari, I. L Brondani, L. M. B Sanchez and L. F. Quadros, 2006. Chromium oxide use as a marker for measuring fecal production of grazing cattle: estimative variations due to sampling schedule. *Ciência Rural*, 36:599–603.
- Roche, J. R, N. C. Friggens, J. K. Kay, M. W. Fisher, K. J. Stafford, and D. P. Berry. 2009. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *J.Dairy Sci.* 92:5769–5801.
- Roche, J. R, K. A. Macdonald, K. E. Schütz, L. R. Matthews, G. A. Verkerk , S. Meier, J. J. Looor, A. R. Rogers, J.McGowan, S. R. Morgan, S.Taukiri , and J. R. Webster. 2013. Calving body condition score affects indicators of health in grazing dairy cows *J. Dairy Sci.* 96:5811–5825 <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-6600>
- Saeed, M., M. E.A. Hack, M.Algawany and N. Naveed. 2017. Phytochemistry modes of action on beneficial health applications of green tea in humans and animals. In. *J. Pharmacol* 13:698 708.
- Schonfeld, P., and L. Wojtczak. 2008. Fatty acids as modulators of the cellular production of reactive oxygen species. *Free Radic. Biol. Med.* 45: 231e241. [http:// dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.04.029](http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.04.029)
- Sordillo, L. M. and S. L. Aitken 2009: Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 128: 104–109 doi: 10.1016/j.vetimm.2008.10.305.

- Souza, E. L, C.E.V Oliveira, T. L. M. Stamford, M .L Conceição and N .J Gomes Neto. 2013. Influence of carvacrol and thymol on the physiological attributes, enterotoxin production and surface characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. *Braz J Microbiol*, 44: 29-35.
- Schukken, Y. H, J. Günthe, J. Fitzpatrick, M.C.Fontaine, L. Goetze, O. Holst, J. Leigh W. Petzl, H. J. Schubert, A.Sipka, D.G.E.Smith, R.Quesnell, J.Watts, R.Yancey, H.Zerbe, A.Gurjar, R.N.Zadoks and H.-M.Seyfert. 2011. Host-response patterns of intramammary infections in dairy cows *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 144: 270–289
- Stefanon, B., S. Sgorlon and G. Gabai. 2005. Usefulness of Nutraceuticals in Controlling Oxidative Stress in Dairy Cows Around Parturition *Veterinary Research Communications* 29(Suppl. 2): 387–390 DOI: 10.1007/s11259-005-0088-z
- Surh, Y.J. 2008. NF- $\kappa$ B and Nrf2 as Potential Chemopreventive Targets of Some Anti-Inflammatory and Antioxidative Phytonutrients with Anti-Inflammatory and Antioxidative Activities DOI:10.6133/apjcn.2008.17.s1.64
- Tedesco, D., A.Tava, S.Galletti, M.Tameni , G.Varisco, A. Costa and S.Steidler. 2004. Effects of Silymarin, a natural hepatoprotector, in periparturient dairy cows *J. Dairy Sci.* 87: 2239-2247. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(04)70044-2
- Tedesco, M. J, C. A. Bissani, H. Bohnen, and S. J.Volkweiss. 1995. Análise de solo, plantas e outros materiais. 2.ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Solos, 118 p. (UFRGS. Boletim Técnico, 5).

- Tekippe, J. A, A. N Hristov, K. S Heyler, T. W. Cassidy, V. DZheljazkov, J. F. S Ferreira, S. K Karnati and G. AVarga.2011.Rumen Fermentation and Production Effects of *Origanum Vulgare* L. Leaves in Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*94: 5065–5079.doi:10.3168/jds.2012-95-1-498
- Thangarajon, S.A, A.Deivasigamani, S. S.Natarajan, P.Krishnan and S.K. Mohanan. 2014 . Neuroprotective activity of l-theanine on 3 nitropropionic acid-induced neurotoxicity in rat striatum.*J.Neurosci* 124: 673-684doi: 10.3109/00207454.2013.872642.
- Tothova, C., O. Nagy and G. Kovac. 2014. Acute phase proteins and their use in the diagnosis of diseases in ruminants: a review *Veterinari Medicina*, 59, (4): 163–180
- Trevisi, E.,L.Moscati, and M. Amadori. 2016. Chapter 9 – Disease-Predicting and Prognostic Potential of Innate Immune Responses to Noninfectious Stressors: Human and Animal Models The Innate Immune Response to Noninfectious Stressors. 209–235 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801968-9.00009-X>
- Trevisi, E., A. Zecconi, G. Bertoni and R. Piccinini. 2010. Blood and milk immune and inflammatory profiles in periparturient dairy cows showing a different liver activity index *Journal of Dairy Research* 77: 310–317.
- Trevisi, E., M. Amadori, S. Cogrossi, E. Razuoli and G. Bertoni. 2012. Metabolic stress and inflammatory response in high-yielding, periparturient dairy cows. *Research in Veterinary Science* 93: 695–704.



- Trevisi, E., N. Jahan, G. Bertoni, A. Ferrari and A. Minuti. 2015. Pro-inflammatory cytokine profile in dairy cows: Consequences for new lactation Italian Journal of Animal Science 14 (3): 285-292. <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.3862>
- Tronco, V. M. 2003. Manual para Inspeção da Qualidade do Leite. 2ª ed. Santa Maria: UFSM.
- Ultee, A., M.H.J. Bennik, and R. Moezelaar. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. Applied Environmental Microbiology 68:1561-1568
- Vriens, J., B. Nilius and R. Vennekens. 2008. Herbal compounds and toxins modulating TRP channels. Curr. Neuropharmacol 6:79–96.
- Wein, S., B. Beyer, A. Gohlke, R. Blank, C.C. Metges and S. Wolfram. 2016. Systemic Absorption of Catechins after Intraruminal or Intraduodenal Application of a Green Tea Extract in Cows PLoS ONE 11(7): e0159428. doi:10.1371/journal.pone.0159428
- Williams, C.H., D.J. David and O. Iismaa. 1962. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. Journal of Agriculture Science 59 (3): 381-385
- Winkler, A., D. K.Gessner, C. Koch, F.J.Romberg, G.Dusel, E. Herzog, E. Most and K. Eder. 2015. Effects of a plant product consisting of green tea and curcuma extract on milk production and the expression of hepatic genes involved in endoplasmic stress response and inflammation in dairy cows Archives of Animal Nutrition 69 (6): 425–441 <http://dx.doi.org/10.1080/1745039X.2015.1093873>

Yuan, G. J., Z. J. Gong, X. R. Zhou, P. Zhang, X. M. Sun and X. Li. 2006. Epigallocatechin-3-gallate ameliorates alcohol-induced liver injury in rats. *Int J Mol Sci.* 7(7):204–19 doi:[10.3390/i7070204](https://doi.org/10.3390/i7070204)

Zanela, M.B, M.E.R Ribeiro, V. Fischer. 2009. Ocorrência do leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 61:1009-1013

**Tabela 1.** Composição bromatológica e digestibilidade dos alimentos e das dietas basais ofertadas durante o período de pré e pós parto

Item	Dietas Pré parto <sup>1</sup>			Dietas Pós parto <sup>1</sup>		
	CON	ECV	EO	CON	ECV	EO
Ingredientes (kg/100 kg)						
Silagem de milho	54,1	54,1	54,1	39,5	39,5	39,5
Pastagem	-	-	-	19,8	19,8	19,8
Grão de milho moído	19,7	19,7	19,7	24,7	24,7	24,7
Farelo de trigo	8,2	8,2	8,2	7,8	7,8	7,8
Farelo de soja	8,2	8,2	8,2	3,0	3,0	3,0
Grão de soja moído	7,3	7,3	7,3	1,9	1,9	1,9
Mistura mineral pré parto (sais aniônico)	2,4	2,4	2,4	-	-	-
Suplemento mineral e vitamínico do pós parto	-	-	-	1,9	1,9	1,9
Uréia	-	-	-	1,0	1,0	1,0
Sal comum	-	-	-	0,2	0,2	0,2
Carbonato de cálcio	-	-	-	0,3	0,3	0,3
EO	-	-	0,56	-	-	0,56
ECV	-	0,28	-	-	0,28	-

Composição química (g/100 g de MS da dieta)

Dietas Pré parto

Dietas Pós parto

PB	14,7	15,0
FDN	50,8	35,6
DIVMS	72,0	73,1

---

<sup>1</sup>CON= controle; ECV=Extrato de chá verde, 5 g/dia de extrato de chá verde; EO= Extrato de orégano, 10 g/dia de extrato de orégano, PB = proteína bruta; FDN = fibra em detergente neutro; DIVMS= digestibilidade in vitro da MS.

**Tabela 2.** Quantidades consumidas de matéria seca e frações da dieta de vacas Jersey durante o período de transição recebendo ou não extratos de orégano e chá verde

Variável	Tratamentos <sup>1</sup>			EP <sup>2</sup>	P>F Trat	P>F Dias	P>F T*D	P>F Contrastes		
	CON	EO	ECV					CON X OR	CON X ECV	ECV X OR
<i>Pré parto</i>										
Consumo de MS (kg/ PC <sup>0,75</sup> /dia)	0,08	0,08	0,08	0,03	0,42	<0,01	0,98	0,19	0,59	0,34
Consumo de EM (kg/ PC <sup>0,75</sup> /dia)	0,25	0,27	0,25	0,09	0,28	<0,01	0,96	0,11	0,66	0,32
Consumo de NDT (kg/ PC <sup>0,75</sup> /dia)	0,05	0,06	0,05	0,02	0,29	<0,01	0,95	0,12	0,78	0,28
Consumo FDN (kg PC <sup>0,75</sup> /dia)	0,04	0,04	0,04	0,02	0,69	0,03	0,98	0,48	0,47	0,39
Consumo PB (kg PC <sup>0,75</sup> /dia)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,11	<0,01	0,54	0,06	0,86	0,31
<i>Pós parto</i>										
Consumo de MS (kg/ PC <sup>0,75</sup> /dia)	0,09	0,10	0,10	0,04	0,34	<0,01	0,15	0,16	0,84	0,34
Consumo de EM (kg/ PC <sup>0,75</sup> /dia)	0,30	0,33	0,30	0,01	0,31	<0,01	0,08	0,15	0,83	0,32

Consumo de NDT (kg/ PC <sup>0,75</sup> /dia)	0,06	0,07	0,06	0,03	0,33	<0,01	0,01	0,14	0,64	0,25
Consumo FDN (kg PC <sup>0,75</sup> /dia)	0,04	0,05	0,04	0,03	0,56	<0,01	0,13	0,31	0,91	0,50
Consumo PB (kg PC <sup>0,75</sup> /dia)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,14	<0,01	0,09	0,07	0,96	0,27

---

<sup>1</sup>CON = controle, EO = extrato de orégano, ECV= extrato de chá verde <sup>2</sup> EP= Erro Padrão a,b,c = médias seguidas por diferentes letras são significativas a 5% (P<0,05), d,e,f = médias seguidas por diferentes letras possuem tendência (P<0,10).

**Tabela 3.** Valores de peso corporal, escore de condição corporal de vacas Jersey durante o período de transição recebendo ou não extratos de orégano e chá verde

Variável	Tratamentos <sup>1</sup>			EP <sup>2</sup>	P>F Trat	P>F Sem Sem	P>F Sem X Trat	P>F Contrastes		
	CON	EO	ECV					CON X EO	CON X ECV	ECV X EO
<i>Peso corporal (kg)</i>										
Pré parto	446	448	446	3,9	0,93	0,01	0,44	0,74	0,98	0,74
Pós parto	406	422	415	6,4	0,22	0,01	0,87	0,09	0,29	0,50
Perda pós parto	-9,2	-10,8	-17,4	5,5	0,57	-	-	0,85	0,31	0,45
<i>ECC</i>										
Pré parto	3,50	3,58	3,50	0,05	0,60	0,42	0,11	0,37	0,96	0,37
Pós parto	3,34	3,33	3,32	0,06	0,97	0,10	0,38	0,94	0,87	0,80
Perda pós parto	-0,17	-0,23	-0,19	0,04	0,67	-	-	0,39	0,80	0,54

<sup>1</sup>CON = controle, EO = extrato de orégano, ECV= extrato de chá verde <sup>2</sup>EP= Erro Padrão

**Tabela 4.** Valores médios dos metabólitos sanguíneos das vacas de vacas Jersey durante o período de transição recebendo ou não extratos de orégano e chá verde

Variáveis	Tratamentos <sup>1</sup>			EP <sup>2</sup>	P>F Trat	P>F Dias	P>F T*D	Contrastes		
	CON	EO	ECV					CON X EO	CON X ECV	ECV X EO
<i>Pré parto</i>										
Glicose (mg/dL)	56,46	55,76	60,53	1,7	0,29	<0,01	0,23	0,72	0,21	0,13
Nitrogênio Uréico (mg/dL)	22,87	20,49	25,33	2,2	0,43	0,02	0,20	0,49	0,49	0,20
Creatinina (mmol/L)	0,87	0,90	1,33	0,1	0,27	0,33	0,26	0,90	0,13	0,19
Cálcio (mg/dL)	9,28 <sup>e</sup>	9,80 <sup>d</sup>	9,25 <sup>e</sup>	0,1	0,08	0,01	0,63	0,04	0,93	0,05
BHB (mmol/L)	0,51	0,48	0,54	0,4	0,71	0,24	0,50	0,70	0,62	0,42
<i>Pós parto</i>										
Glicose (mg/dL)	45,64	50,24	47,01	2,2	0,41	0,07	0,17	0,19	0,68	0,37
Nitrogênio Uréico (mg/dL)	12,30	13,71	11,82	1,6	0,78	0,22	0,79	0,60	0,85	0,49
Creatinina (mmol/L)	1,21	0,66	0,88	0,2	0,18	0,28	0,32	0,07	0,25	0,48



Cálcio (mg/dL)	9,21	9,41	8,81	0,2	0,25	0,64	0,71	0,59	0,24	0,11
BHB (mmol/L)	0,87	0,61	0,85	0,2	0,52	0,02	0,97	0,29	0,93	0,35

---

<sup>1</sup>CON = controle, EO = extrato de orégano, ECV= extrato de chá verde <sup>2</sup> EP= Erro Padrão a,b,c = médias seguidas por diferentes letras são significativas a 5% (P<0,05), d,e,f = médias seguidas por diferentes letras possuem tendência (P<0,10).

**Tabela 5.** Parâmetros hematológicos das vacas de vacas Jersey durante o período de transição recebendo ou não extratos de orégano e chá verde

Variáveis	Tratamentos <sup>1</sup>			EP <sup>2</sup>	P>F Trat	P>F Dias	P>F T*D	Contrastes		
	CON	EO	ECV					CON X EO	CON X ECV	ECV X EO
Plaquetas(x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	313,66 <sup>b</sup>	389,28 <sup>a</sup>	296,94 <sup>b</sup>	22,3	0,03	0,01	0,59	0,03	0,60	0,01
Eritrócitos(x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	5,68	5,32	5,81	0,19	0,26	<0,01	0,44	0,22	0,65	0,11
Hemoglobinas (g/dl)	9,85	9,71	10,14	0,31	0,73	<0,01	0,51	0,85	0,44	0,60
Hematócrito (%)	27,24	27,59	28,15	0,84	0,74	<0,01	0,91	0,77	0,44	0,67
Leucócitos (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	7,08	7,94	8,11	1,34	0,41	0,03	0,54	0,32	0,22	0,85
Eusínófilos (%)	6,37	6,97	7,74	1,54	0,82	<0,01	0,43	0,79	0,53	0,74
Linfócitos t (%)	52,66	50,49	49,54	3,02	0,79	0,04	0,60	0,52	0,64	0,85
Bastonetes (%)	2,73	1,61	2,61	2,56	0,35	0,06	-	0,18	0,88	0,24
Monocitos (%)	3,34	3,76	3,71	2,36	0,81	0,60	-	0,55	0,60	0,94

<sup>1</sup>CON = controle, EO = extrato de orégano, ECV= extrato de chá verde <sup>2</sup> EP= Erro Padrão a,b,c = médias seguidas por diferentes letras são significativas a 5% (P<0,05), d,e,f = médias seguidas por diferentes letras possuem tendência (P<0,10)

**Tabela 6.** Valores dos fatores enzimáticos antioxidantes e espécies reativas de vacas Jersey durante o período de transição recebendo ou não extratos de orégano e chá verde

Variáveis	Tratamento <sup>1</sup>			EP <sup>2</sup>	P>F Trat	P>F Dias	P> F T*D	Contrastes		
	CON	EO	ECV					CON X EO	CON X ECV	ECVX EO
SOD <sup>3</sup> (U/mg)	15,94	16,79	15,88	0,73	0,66	0,07	0,51	0,45	0,95	0,68
Tiois <sup>4</sup> (nmol/mg)	0,19	0,23	0,20	0,02	0,40	0,08	0,57	0,24	0,68	0,18
CARBO <sup>5</sup> (U/mg)	1,81	2,27	1,95	0,27	0,37	0,01	0,33	0,18	0,49	0,18
DCFP <sup>6</sup> (nmol/mg)	4290	3705	3745	466	0,60	0,14	0,62	0,37	0,41	0,95
DCFE <sup>7</sup> (nmol/mg)	16733 <sup>a</sup>	12304 <sup>b</sup>	10303 <sup>b</sup>	647	<0,001	<0,01	0,02	<0,01	<0,01	0,04
GSH <sup>8</sup> (U/mg)	0,11	0,13	0,12	0,05	0,22	0,05	0,20	0,08	0,30	0,48
CAT <sup>9</sup> (U/mg)	1,15	1,15	1,17	0,07	0,98	<0,01	0,41	0,98	0,85	0,88
GPX <sup>10</sup> (U/mg)	0,78	0,91	0,81	0,05	0,27	0,62	0,49	0,11	0,67	0,24

<sup>1</sup>CON = controle, EO = extrato de orégano, ECV= extrato de chá verde <sup>2</sup>EP=Erro Padrão a,b,c = média seguidas por diferentes letras são significativas a 5% (P<0,05), e,f,g = média seguidas por diferentes letras apresentam tendência (P<0,10). <sup>3</sup>SOD= superoxide dismutase

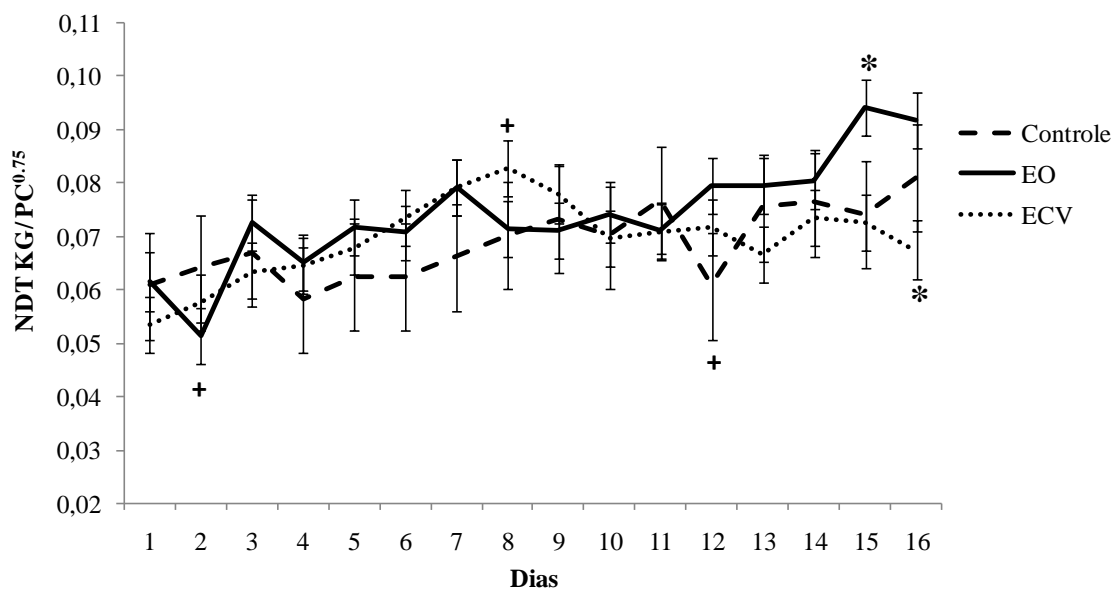
<sup>4</sup>TIOS= -SH, grupo das sulfidrilas <sup>5</sup>CARBO= carbonilas <sup>6</sup>DCFP= diclorofluoresceína diacetato plasmática <sup>7</sup>DCFE= diclorofluoresceína diacetato nos eritrócitos <sup>8</sup>GSH= glutatona reduzida <sup>9</sup>CAT= catalase <sup>10</sup>GPx = glutatona peroxidase

**Tabela 7.** Produção e composição físico-química de vacas Jersey durante o período de transição recebendo ou não extratos de orégano e chá verde.

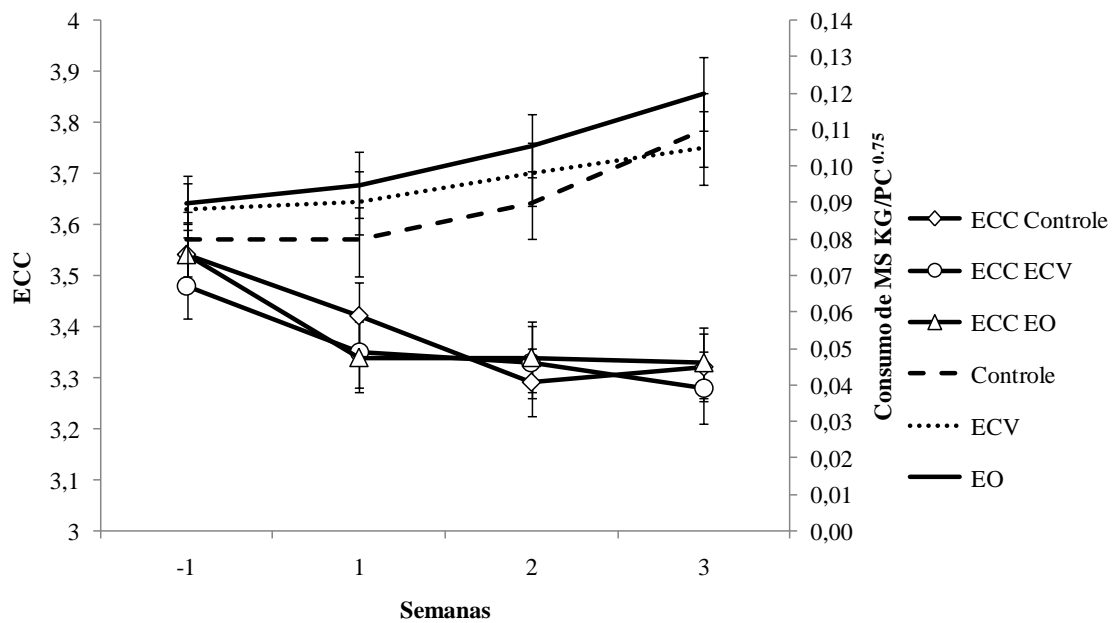
Variáveis	Tratamento <sup>1</sup>			EP <sup>2</sup>	P>F Trat	P>F Dias	P> F T*D	Contrastes		
	CON	EO	ECV					CON X EO	CON X ECV	ECV X EO
Produção de leite (kg/dia)	16,1 <sup>a</sup>	18,3 <sup>a</sup>	14,0 <sup>b</sup>	0,9	0,02	<0,01	0,94	0,13	0,11	0,05
PLCG (kg/dia)	17,1	19,6	17,6	1,4	0,49	0,21	0,56	0,25	0,84	0,36
PLCE (kg/dia)	17,2	19,7	17,2	1,3	0,37	0,41	0,53	0,21	0,97	0,22
Eficiência alimentar (PLCG\ kg MS)	1,6 <sup>e</sup>	1,6 <sup>e</sup>	2,3 <sup>d</sup>	0,2	0,06	0,63	0,31	0,93	0,03	0,03
Eficiência alimentar (PLCE\ kg MS)	1,7 <sup>e</sup>	1,7 <sup>e</sup>	2,2 <sup>d</sup>	0,1	0,10	0,93	0,24	0,95	0,06	0,05
Álcool (°GL)	74	70	74	1,7	0,17	<0,01	0,14	0,10	0,88	0,08
pH	6,6 <sup>a</sup>	6,5 <sup>b</sup>	6,6 <sup>a</sup>	0,3	0,01	<0,01	0,07	0,08	0,88	0,01

Acidez titulável (D°)	16,9	21,0	17,3	1,5	0,15	0,04	0,64	0,06	0,84	0,11
Cálcio iônico (mg/L)	150	157	149	8,6	0,78	<0,01	0,02	0,55	0,93	0,52
Gordura (g/100g)	3,5	3,5	3,9	0,2	0,52	0,61	0,34	0,99	0,31	0,33
Proteína (g/100g)	3,6	3,6	3,7	0,6	0,66	<0,01	0,74	0,74	0,55	0,87
Lactose (g/100g)	4,3	4,5	4,3	0,8	0,27	0,07	0,80	0,21	0,86	0,14
Sólidos totais (g/100g)	12,6	12,7	13,1	0,28	0,56	0,04	0,09	0,86	0,30	0,42
Contagem de células somáticas (10 <sup>3</sup> cel/mL)	1496	563	1123	195	0,12	0,03	0,14	0,04	0,39	0,22

<sup>1</sup>CON = controle, EO = extrato de orégano, ECV= extrato de chá verde <sup>2</sup> EP=Erro Padrão a,b,c = média seguidas por diferentes letras são significativas a 5% (P<0,05), d,e,f = média seguidas por diferentes letras apresentam tendência (P<0,10), PLCG= produção de leite corrigida para gordura, PLCE= produção de leite corrigida para energia

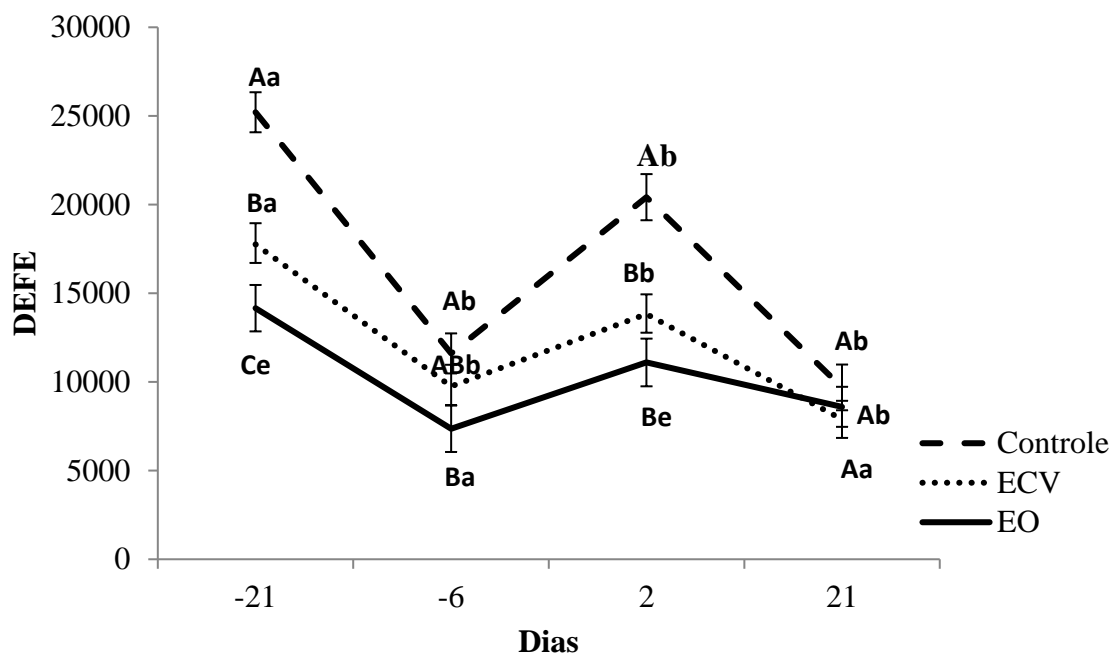


**Figura 1.** Curva de ingestão de nutrientes digestíveis totais conforme os tratamentos e dias experimentais durante o período pós parto.\* médias são significativamente diferentes entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ),+ as médias apresentam uma tendência para diferenças entre os tratamentos ( $P < 0,10$ ).

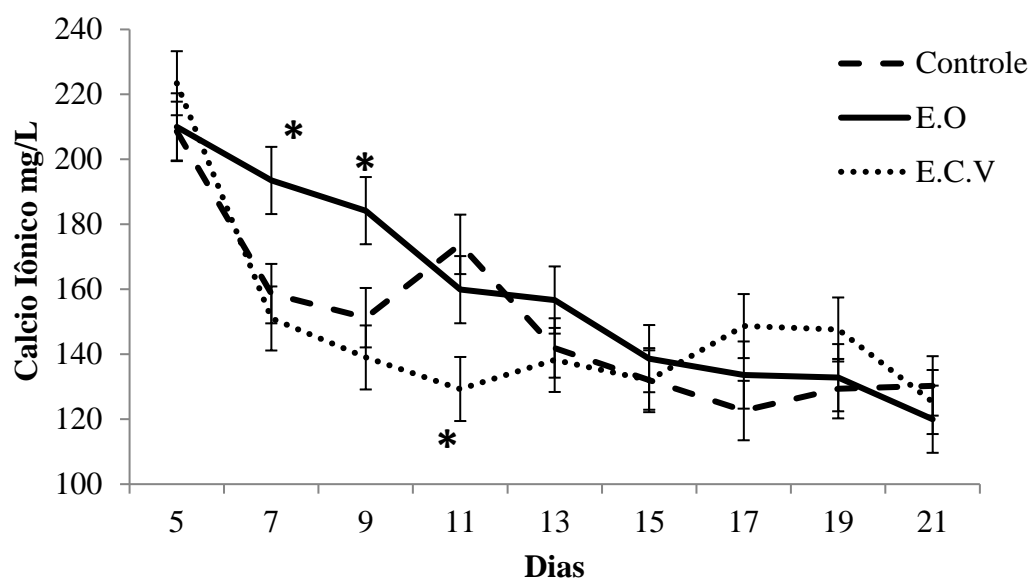


**Figura 2.** Curvas de consumo de MS ( $\text{Kg}/\text{PC}^{0.75}$ ) e escore de peso corporal conforme os tratamentos e dias experimentais durante o período de 7 dias antes do parto e 21 dias pós parto.





**Figura 3.** Valores da enzima diclorofluoresceína (DCFE) conforme os tratamentos e dias experimentais. Letras maiúsculas A B C e minúsculas a b c indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre tratamentos e entre dias respectivamente, letras e f g indicam tendência ( $P < 0,10$ ) entre dias.



**Figura 4.** Médias do cálcio iônico no leite de vacas recebendo extrato de orégano ou extrato de chá verde durante as primeiras três semanas após o parto, \* = médias são significativamente diferentes entre os tratamentos  $P < 0,05$ .

### **CAPÍTULO III**

#### **DIFERENTES OFERTAS DE DIETAS NO PRÉ PARTO MODIFICAM O CONSUMO E ESTRESSE OXIDATIVO NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO DE VACAS DA RAÇA HOLANDÊS E GIROLANDO F1<sup>4</sup>**

---

<sup>4</sup>Este capítulo é apresentado de acordo com as normas de publicação da revista **Journal of Dairy Science**

**Diferentes ofertas de dietas no pré parto modificam o consumo e estresse oxidativo  
no período de transição de vacas da raça Holandês e Girolando F1**

**E.F Vizzotto<sup>\*</sup>, V Fischer<sup>†1</sup>, S.C.B Stivanin<sup>\*</sup>, J. P. Matiello<sup>‡</sup>, F.S. Machado<sup>§‡</sup>, M.M.**

**Campos, <sup>§‡</sup> T.R. Tomich, <sup>§‡</sup> L.G. R. Pereira<sup>§‡</sup>**

<sup>\*</sup>Doutoranda do Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Avenida Bento Gonçalves, 7712, 91540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

<sup>†5</sup>Professora adjunta do Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Avenida Bento Gonçalves, 7712, 91540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

<sup>‡</sup> Mestrando do Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Avenida Bento Gonçalves, 7712, 91540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

<sup>§‡</sup>Pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) Gado de Leite – Rua Eugênio do Nascimento, 610 - Dom Bosco CEP:36038-330 - Juiz de Fora - MG

Short title: Ofertas de dieta no pré parto e imunidade

---

<sup>5</sup>Corresponding author: Vivian Fischer. E-mail: [vivinha.fischer@hotmail.com](mailto:vivinha.fischer@hotmail.com)

## RESUMO

Objetivou-se avaliar dois planos nutricionais fornecidos no pré parto no consumo, produção e composição do leite, atributos sanguíneos e antioxidantes em animais da raça Holandes e Girolando F1 ( $\frac{1}{2}$  Holandes  $\times$   $\frac{1}{2}$  Gir). Foi adotado delineamento experimental inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2x2 (2 composições raciais e dois planos nutricionais) com medidas repetidas no tempo (dias) e seis repetições. Foram analisados o consumo, o PC, escore de condição corporal (**ECC**), metabólitos sanguíneos, enzimas relacionadas ao estresse oxidativo além da produção e composição do leite. Vacas Girolando F1 apresentaram maior ECC que as vacas Holandês durante todo o período experimental, independente do plano nutricional ofertado. No pré parto vacas da raça Girolando F1 tiveram menor consumo de matéria seca (**MS**), e no pós parto, menor consumo de MS e energia metabolizável em relação às vacas Holandes entre os dias 12 a 18. No pré parto, a concentração de cálcio sanguíneo foi menor no plano nutricional 1,69% em relação a 1,89%. Houve maior concentração de DCFE no pré parto para o plano nutricional 1,89% em relação a 1,69%, enquanto no pós parto houve maior concentração de carbonilas no plano nutricional 1,69% em relação a 1,89%. Vacas Holandês apresentaram maior concentração de lactose. Houve interações significativas entre composição racial e dias de mensuração para creatinina, ácidos graxos não esterificados (**AGNE**), produção de leite e concentração de gorduras entre plano nutricional e dias de mensuração para AGNE, glicose, DCFE e DCFP, GSH. GPx foi maior em vacas Holandês recebendo a oferta 1,69% PC em relação à oferta 1,89% PC. O plano nutricional de 1,89% do PC aumentou a concentração de AGNE e a espécie reativa DCFE aumentando o estresse oxidativo em

relação ao plano nutricional 1,69%PC. Entretanto não encontramos diferenças entre as composições raciais para o estresse oxidativo. Vacas Girolando F1 mantiveram maior deposição de reservas corporais durante o período de transição, consumindo menos no pré e em alguns dias do pós parto em relação as vacas Holandês.

## INTRODUÇÃO

O consumo de matéria seca no final do período seco pode influenciar a retomada do consumo durante o período após o parto (Roche et al., 2013). A magnitude e a duração do balanço energético negativo são associadas com a ingestão de matéria seca (Drackeley et al., 2005). Consequentemente, estratégias adotadas na alimentação de vacas no pré parto devem buscar fornecer os nutrientes necessários e promover a retomada da ingestão de matéria seca após o parto (Grumer et al., 2004). O consumo adequado de nutrientes pode contribuir para diminuir o estresse oxidativo (Bradford et al., 2015; Pedernera et al., 2010) e a ocorrência de distúrbios metabólicos (Smith et al., 2017; Janovick et al., 2011).

A expectativa do aumento mundial do consumo de lácteos por habitante principalmente em países desenvolvidos (USDA, 2017), torna os países localizados nos trópicos e subtropicais importantes produtores de alimentos devido às suas condições climáticas favoráveis para produção. As raças zebuínas e suas mestiças predominam em países tropicais, entretanto ainda são alcançados baixos índices de produtividade em relação a raças *Bos tauros tauros* (Silva et al., 2017). A melhoria de condições de produção em regiões de clima tropical depende de fatores relacionados ao animal e a tecnologia de produção. No contexto do animal em com base da sustentabilidade dos sistemas de produção surge como alternativa os animais *Bos tauros indicus* com o

cruzamento de vacas leiteiras especializadas *Bos tauros tauros*. Vários estudos confirmam a vantagem de tal cruzamento (*Bos tauros tauros*(Holandes) × *Bos tauros indicus*(Gir)), destacando-se animais com alta capacidade de adaptação aos trópicos e maior produtividade (Borges et al., 2015).

A otimização do consumo com a redução das doenças metabólicas durante o período pós parto tem sido evidenciada em estudos com vacas Holandes (Drackely e Cardoso, 2014; Tienken et al., 2015; Zhou et al., 2015; Little et al., 2016), entretanto existe um número relativamente pequeno de estudos com bovinos oriundos de cruzamentos *bos tauros tauros* × *bos tauros indicus* durante o período de transição (Laguna et al., 2017), os quais podem apresentar atributos produtivos, metabólicos (Laguna et al., 2017) e exigências de consumo (Lage, 2015) distintos dos animais *Bos taurus taurus*. Rotta et al., 2015b trabalhando com Girolando durante o período de gestação ofertando 2,15 %PC para satisfazer 190% das exigência recomendadas para animais Holandes, observou aos 268 dias acúmulo de gordura na glândula mamária, entretanto essa oferta pareceu ser a mais apropriada no ultimo mês de gestação (Rotta et al., 2015a). De todo modo, estudos com animais Girolando que avaliaram o efeito do aporte nutricional no pré parto e suas consequências no consumo e estresse oxidativopós parto são escassos.

O presente estudo foi desenvolvido com intuito de contribuir para a melhor compreensão da relação entre o consumo, produção e composição do leite, e estresse oxidativo em vacas Girolando F1 (½ Holandês ½ Gir) durante o período de transição. A hipótese de que vacas Girolando F1 (½ Holandês ½ Gir) apresentam respostas distintas às das vacas Holandês durante o período de transição frente a planos nutricionais distintos recebidos durante a gestação.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Bioenergética da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), no Pólo Multi-uso de Pecuária de Bioeficiência e Sustentabilidade da Embrapa Gado de Leite, em Coronel Pacheco, Minas Gerais. Todos os procedimentos de cuidados e manuseio dos animais foram aprovados pelo Comitê Embrapa de Cuidado e Uso de Animais de Gado Leiteiro (Juiz de Fora, MG, Brasil; Protocolo CEUA-EGL 25/2015).

### *Descrição do local, animais e dietas*

Foram utilizadas 24 novilhas 12 da composição racial Holandês e 12 Girolando F1 (½ Gir ½ Holandês) durante 3 semanas antes do parto até 21 dias pós parto, mantidas em sistema de confinamento tipo *free-stall*, contendo camas individuais com colchão de borracha, equipado com alimentadores eletrônicos e portões de entrada (AF-1000 Master Portão, Intergado Ltd., Contagem, MG, Brasil), além de bebedouros eletrônicos (WD-1000, Intergado Ltd., Contagem, Minas Gerais, Brasil). Cochos de alimento e água foram anexados a antenas de identificação por radiofrequência (RFID) que monitoraram a ingestão individual de alimento e água (Chizzotti et al., 2015). As vacas foram equipadas com um marcador auricular contendo um transponder passivo único (FDX - ISO 11784/11785; Allflex, Joinville, SC, Brasil) na orelha direita, e cada cocho de alimentação foi aleatoriamente designada para uma única vaca.

As novilhas (6 de cada composição racial) foram aleatoriamente distribuídas nos dois planos nutricionais e receberam dieta com composição semelhantes (Tabela 1). Do momento da confirmação da prenhez até os 190 dias de gestação, a dieta basal foi fornecida na quantidade equivalente a 1,26 e 1,89% do peso corporal (**PC**). A partir dos



190 dias de gestação até da data do parto, a oferta 1,26% do PC foi aumentada para 1,69% do PC.

Ao início do estudo, os valores (média  $\pm$  DP) de PC, escore de condição corporal (ECC) e a idade das novilhas Holandês recebendo oferta de 1,69% do PC, foi  $741 \pm 82$  kg,  $3,9 \pm 0,4$  pontos e  $4,0 \pm 0,4$  anos; já para as novilhas Holandês que receberam 1,89% do PC apresentaram  $768 \pm 54$  kg,  $4,0 \pm 0,3$  pontos e  $4,2 \pm 0,4$  anos; novilhas GirolandoF1 que receberam oferta de 1,69% do PC apresentaram  $817, \pm 79$  kg,  $4,4 \pm 0,5$  pontos e idade de  $4,3 \pm 0,5$  e as que receberam 1,89% do PC  $829 \pm 97$  kg,  $4,6 \pm 0,2$  pontos e  $4,0 \pm 1,1$  anos.

Os níveis de consumo 1,69 e 1,89% do PC foram calculados para atender 100% e 132 % das exigências diárias de energia metabolizável na dieta pré-parto para a raça Holandês (NRC, 2001). Semanalmente as quantidades de TMR foram ajustadas. A dieta basal apresentou relação volumoso:concentrado de 82:18, sendo o volumoso composto por 54,4% de silagem de milho e 45,6% de silagem de sorgo e, o concentrado por 64,7% de grão de milho moído, 31,3% de farelo de soja, 3,2% de sal mineral Lactage Gold® (Gabi, Sales Oliveira, São Paulo ) e 0,7% de calcário.

Logo após o parto todas as novilhas receberam 30 litros de drensh energético-mineral contendo 30g de cloreto de potássio, 255g de cloreto de sódio, 15g de cloreto de cálcio, 300 ml de propilenoglicol e 30 litros de água, utilizando sonda oroesofágica.

Durante os primeiros 21 dias após o parto, as vacas receberam dietas semelhantes *ad libitum* (permitindo 5 a 10% de sobras) (Tabela 1). A dieta foi fornecida após cada ordenha, às 09:00 e às 17:00 hs e foi calculada para atender as exigências nutricionais considerando produção de 25 kg de leite com 3,6% de gordura (NRC, 2001).

***Consumo de matéria seca (CMS), escore de condição corporal (ECC) e peso corporal (PC)***

O CMS foi avaliado de forma contínua por meio de comedouros automáticos de alimento e que monitoraram a ingestão individual de alimento (Chizzotti et al., 2015). As amostras da TMR, de cada ingrediente e das sobras foram coletadas semanalmente, pesadas, secadas em estufa de ventilação forçada, moídas (1 mm). Posteriormente determinaram-se os teores de MS em estufa a 105°C (AOAC, 1990; método 934.01), cinzas (AOAC, 1990; método 942.05), proteína bruta (**PB**) pelo método Kjeldahl (AOAC, 1990; método 984.13), extrato etéreo (**EE**) (AOAC, 1990; método 920.39), energia bruta (**EB**) por combustão em bomba calorimétrica adiabática - marca IKA® WERKE /modelo C-5000 ADI, Control, (AOAC, 1995), fibra em detergente neutro (FDN) pelo método sequencial de Van Soest et al. (1991), adaptado para as condições do aparelho ANKOM220, Fiber Analyzer (Ankom Technology, Fairport, NY), com adição de 500 µL/g MS de amilase, sem uso sulfito de sódio e corrigido para cinzas residuais (Mertens, 2002), fibra em detergente ácido (**FDA**) (AOAC, 1996; método 973.18).

AED (Mcal/PC<sup>0.75</sup>/dia) foi calculada com os coeficientes de digestibilidade aparente, obtidos nos ensaios de digestibilidade *in vivo* realizados com os mesmos animais por Matiello (2018). O cálculo da energia metabolizável empregou a fórmula:  $[1.01 \times (ED \text{ mcal/kg MS/dia}) - 0.45] + 0.0046 \times (EE\% - 3)$  onde EE%= extrato etéreo (NRC, 2001).

A conversão alimentar foi calculada nos dias 9, 15 e 21 após o parto dividindo o CMS pela produção de leite corrigido para 3,5% de gordura (**PLCG**) e pela produção de leite corrigida para energia (**PLCE**), empregando as formulas:  $PLCG \text{ 3,5\%} = [(0.35 \times \text{kg}$

de leite) + (18.75 × (kg de gordura × kg de leite/100)] (Parekh, 1986) e PLE= [ (0.3246 × kg de leite) + (12.86 × kg de gordura) + (7.04 × kg de proteína verdadeira)], sendo a proteína verdadeira considerada como sendo 95% da proteína bruta do leite (NRC, 2001); e os teores de gordura e proteína do leite determinados por espectrofotometria de infra vermelho.

O PC foi avaliado por meio de balanças eletrônicas automáticas (Intergado<sup>®</sup>, MG, Brasil), as quais foram instaladas no acesso aos bebedouros de forma que em todas as visitas ao bebedouro peso corporal foi mensurado, e a média aritmética foi utilizada para obtenção do peso corporal de cada animal nos dias de avaliação. O ECC foi avaliado semanalmente durante o período pré parto, no dia do parto e nos dias 2, 4, 7, 14 e 21 após parto, por dois avaliadores previamente treinados, seguindo a escala de 1 a 5 (Edmonson et al., 1989).

#### ***Coletas de leite e análise físico-químicas***

Os animais foram ordenhados duas vezes ao dia (7:30 a.m e às 16:30 p.m) em sala de ordenha tipo espinha de peixe (2×4) equipada com contadores eletrônicos de células somáticas MM27, unidade de controle MPC 580/680 e sistema automático de remoção de clusters (DeLaval, Tumba, Suécia ). Os dados de produção de leite do 1° ao 21° dias após o parto foram obtidos pelo software Alpro (DeLaval, Tumba, Suécia). Amostras de leite de cada vaca foram coletadas nas ordenhas da manhã e tarde, do 5° até o 21° dias de lactação, a cada dois dias, para posteriormente se obter uma amostra composta diária de cada animal.

As amostras de leite foram resfriadas durante o período de 12 horas após a ordenha e posteriormente analisadas quanto a pH e estabilidade ao etanol. O pH determinado por potenciometria e a estabilidade ao etanol foi determinada na mistura de

2mL de leite e 2mL de soluções alcoólicas com concentração de etanol de 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84 e 86 % v/v em uma placa de Petri. Os resultados foram expressos como a concentração mínima de etanol na solução alcoólica que a coagulação do leite foi induzida (Tronco et al., 2003; Zanela et al., 2009).

Para análise de composição química e contagem de células somáticas foi realizada uma coleta de leite semanal e enviada refrigerada a 5°C para o Laboratório de Qualidade do Leite da Embrapa Gado de Leite. Os teores de gordura, proteína, lactose e uréia no leite foram determinados por espectrofotometria infravermelho (Bentley FTS, Bentley Instruments, Chaska, MN). A contagem de células somáticas (CCS) foi determinada por citometria de fluxo utilizando equipamento Somacount 300 (Bentley Instruments, Chaska, Minnesota, EUA) a partir de leite acondicionado em tubos contendo o conservante bronopol. Seguindo as recomendações da Federação Internacional de Laticínios (IDF, 2000).

### *Coletas de sangue e análise*

Nos dias -21, -10, -6, -3, 0, 2, 4, 7, 14 e 21 foram coletadas amostras de sangue por punção da veia coccígea às 8:00 h antes da distribuição da dieta. Amostras de 5 ml de sangue foram colocados em tubos vacutainers (Vacutainer; Becton, Dickinson and Company) sem anticoagulante, para determinação de B-hidroxibutirato (**BHB**), ácidos graxos não esterificado (**AGNE**), creatinina e cálcio total, para a coleta de glicose utilizou-se vacutainers de 5mL contendo fluoreto. As amostras foram colocadas imediatamente em banho maria, à temperatura ambiente por 30min e centrifugadas a  $1.500 \times g$  durante 10 min a temperatura de 22°C a 25°C. Após centrifugação foi aspirado o soro o qual foi transferido para eppendorfs e armazenado a -20°C. As concentrações

de glicose, cálcio e creatinina foram determinadas com kits analíticos Labtest Diagnostics (Lagoa Santa, Brazil). AGNE e BHB foram mensurados utilizando kits da Randox Laboratories Ltd. (London, United Kingdom). Para a quantificação analítica de todas as amostras sanguíneas, utilizou-se o equipamento espectrofotômetro de Microplacas EON (BioTek® Instruments, Winooski USA).

Aos 21 dias antes do parto, na semana do parto e nos dias 2 e 21 pós parto foram realizadas coletas de sangue para determinação da análise do estresse oxidativo. Alíquotas de 5ml de sangue foram coletadas da veia jugular externa e colocados em tubos vacutainers heparinizados. Imediatamente após, o sangue foi centrifugado à 1.000 g por 10 minutos à temperatura ambiente. A fração do plasma foi coletada e armazenada à -80°C. Os eritrócitos foram lavados com solução salina por três vezes, posteriormente diluídos em solução salina (1:10 v:v) e armazenados em freezer a -80°C.

Foram realizadas as seguintes determinações bioquímicas: atividade da enzima superóxido dismutase (**SOD**) (Misra e Fridovich, 1972), oxidação da diclorofluoresceína (**DCF**) nas amostras de plasma e eritrócitos (Lebelet al., 1992), oxidação das proteínas no plasma por ensaio de determinação de carbonilas (**CARBO**) (Reznick and Packer, 1994) e conteúdo de grupamentos tióis (**TIOIS**) (Aksenov and Markesbery, 2001). A atividade da catalase (**CAT**) foi determinada por meio da redução na absorvância medida à 240 nm, resultado da redução na concentração do substrato dessa enzima, peróxido de hidrogênio (Aebi, 1984). A atividade da glutatona peroxidase (**GPx**) foi determinada por meio de um ensaio indireto, através da redução da absorvância medida à 340 nm, referente à oxidação do NADPH(H<sup>+</sup>) na reação de redução da glutatona oxidada produzida na

reação da GPx (Wendel, 1981), e a concentração de glutathiona reduzida (**GSH**) foi determinada fluorimetricamente (Browne and Armstrong, 1998).

### ***Delineamento experimental e análise estatística***

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2×2 (2 grupos genéticos e duas ofertas de alimento no pré parto), com medidas repetidas no tempo (dias), com quatro tratamentos e 6 repetições (novilhas) em cada tratamento. Os dados foram analisados por análise de variância. A análise estatística considerou as composições raciais, os planos nutricionais, os dias de avaliação e suas interações como efeitos fixos e o animal e o resíduo como efeitos aleatórios, utilizando o procedimento MIXED do SAS<sup>®</sup>, versão 9.4. Foi realizado teste de seleção de estruturas de covariância, utilizando o critério de informação bayesiano (BIC). A idade, o peso corporal e o ECC ao início do estudo foram incluídos no modelo como covariáveis. Quando observadas diferenças, as médias foram comparadas utilizando o recurso LSmeans e as interações foram desdobradas quando significativas a 5%. O efeito principal relativo a dias de mensuração não é apresentado no presente material. As variáveis, perda de peso pós parto, perda de escore de condição corporal pós parto, glicose pré parto e colostrão apresentaram distribuição normal e não se adequaram a nenhuma transformação matemática e foram analisadas por estatística não paramétrica utilizando o teste de *Wilcoxon*.

## **RESULTADOS**

### ***Peso corporal, escore de condição corporal e consumo***

Não foram detectadas interações entre planos nutricionais e composição racial para as variáveis PC, ECC e variações de peso corporal e de ECC, com exceção do ECC no pré parto, que apresentou interação ( $P < 0,05$ ) entre composição racial e dia. Animais Girolando F1 apresentaram maior ECC ( $P < 0,05$ ) nos dias -13, -7, -2 e 0 em relação às novilhas Holandês (Figura 1). As composições raciais e planos nutricionais não alteraram ( $P > 0,10$ ) o peso corporal durante o período de transição (Tabela 2), mas novilhas recebendo 1,89% do PC tenderam ( $P < 0,10$ ) a apresentar maior ECC durante o pré parto em relação às novilhas recebendo 1,69% PC.

No período pós parto, as vacas Girolando F1 apresentaram maior ECC ( $P < 0,05$ ) que as vacas Holandês. Os valores de variação de peso corporal e de ECC pós parto não diferiram ( $P > 0,10$ ) entre as composições raciais e os planos nutricionais.

No período pré parto, não foram detectadas interações ( $P > 0,10$ ) entre plano nutricional, composição racial e dias para as os atributos relativos ao consumo (Tabela 3). Novilhas da raça Holandês consumiram mais Kg MS/PC<sup>0.75</sup> ( $P < 0,05$ ) em relação às novilhas Girolando F1 (Tabela 3) e houve tendência ( $P < 0,10$ ) para maior consumo de MS kg/PC<sup>0.75</sup> para animais recebendo o plano nutricional de 1,69% PC em relação aos animais do plano nutricional 1,89% PC.

Durante o período pós parto, houve interações ( $P < 0,05$ ) entre composição racial e dias de mensuração para a CMS e EM. Maiores valores de CMS ocorreram nos dias 13, 16 e 18, enquanto os maiores valores de ingestão de EM ocorreram nos dias 13, 14, 15, 16 e 18 para vacas da raça Holandês em relação às vacas Girolando F1 (Figura 2). Em relação aos planos nutricionais, houve tendência ( $P \leq 0,10$ ) de maior consumo de EM

durante o pós parto para as vacas que receberam a oferta 1,89%PC em relação às vacas que receberam a oferta 1,69% PC.

### ***Indicadores metabólicos e estado oxidativo***

Durante o período do pré parto, interações significativas entre composição racial, planos nutricionais e dias experimentais não foram detectadas, exceto para creatinina e AGNE, os quais apresentaram interação entre composição racial e dia de mensuração ( $P < 0,05$ ). Os valores de creatinina foram maiores nos dias -10, -6 e -3 (Figura 3), enquanto os valores de AGNE foram maiores no dia do parto para novilhas Girolando F1 em relação às novilhas da raça Holandês (Figura4). Interações entre planos nutricionais e dias experimentais foram detectadas para AGNE. Os valores de AGNE foram maiores no plano nutricional 1,89%PC no dia -10 comparado com os valores obtidos no plano nutricional 1,69%PC (Figura 3). Novilhas que receberam o plano nutricional de 1,89%PC apresentaram maior concentração de cálcio ( $P < 0,05$ ) em relação às novilhas que receberam o plano nutricional 1,69%PC.

Durante o período pós parto, não foram detectadas interações ( $P > 0,10$ ) entre composição racial, planos nutricionais e dias de mensuração, com exceção da glicose, que apresentou interação ( $P < 0,05$ ) entre planos nutricionais e dia. A concentração de glicose foi superior no dia 14 no plano nutricional 1,89%PC em relação ao plano nutricional 1,69%PC (Figura 4). Os valores de BHB tenderam ( $P < 0,10$ ) a serem superiores no plano nutricional 1,89% do PC em relação ao plano nutricional 1,69% do PC, enquanto valores superiores de glicose foram encontrados em vacas GirolandoF1 em relação às vacas da raça Holandês.

Os atributos ligados ao estresse oxidativo (Tabela 5) durante o pré parto mostraram interações ( $P < 0,05$ ) entre os planos nutricionais e dias de mensuração para



concentração de DCF nos eritrócitos (DCFE) (Figura 5). Os valores de DCFE foram maiores no plano nutricional de 1,89% no dia -21 em relação ao plano nutricional 1,69%. Houve tendência ( $P < 0,10$ ) para elevação da concentração de carbonila no plano nutricional 1,89% PC em relação ao plano nutricional 1,69% PC.

No período pós parto houve interação ( $P < 0,05$ ) entre composição racial e plano nutricional entre dias de mensuração. O valor de DCF no plasma (DCFP) no plano nutricional 1,89% PC tendeu ( $P < 0,10$ ) a estar mais elevada no dia 21 em relação ao plano nutricional 1,69% PC. A concentração da enzima antioxidante GSH foi maior no dia 2 para no plano nutricional 1,69% PC em relação ao plano nutricional 1,89% PC (Figura 6). Detectamos maior atividade da enzima antioxidante GPx em vacas da raça Holandês recebendo o plano nutricional 1,69% PC em relação às vacas da composição racial Girolando F1 recebendo esta mesma oferta alimentar (Figura 7). Os valores da concentração de carbonila foram superiores no plano nutricional 1,69% PC em relação ao plano nutricional 1,89% PC.

### ***Produção de leite e seus atributos físico-químicos***

Houve interação entre composição racial e dias de mensuração para produção de leite ( $P < 0,01$ ) e concentração de gordura ( $P \leq 0,05$ ) (Tabela 6). Entre os dias 6 a 9, 11 e 12 a produção de leite tendeu ( $P < 0,10$ ) a ser maior para vacas da raça Holandês; e entre os dias 3 a 5 a produção foi maior ( $P < 0,05$ ) para vacas da raça Holandês em relação às vacas Girolando F1 (Figura 7). No dia 9 a concentração de gordura no leite de animais Girolando F1 foi maior em relação às vacas Holandês (Figura 8).

Diferenças ( $P < 0,05$ ) entre composição racial foram verificadas quanto a concentrações de lactose. Houve tendência de efeito da composição racial ( $P < 0,10$ ) para PLCG e PLCE. As vacas da raça Holandês apresentaram maior ( $P < 0,05$ ) concentração

de lactose relação às vacas Girolando F1. A PLC tendeu ( $P<0,10$ ) para ser maior em vacas da raça Holandês em relação às vacas Girolando F1.

Entre as ofertas de alimento, diferenças significativas ( $P<0,05$ ) foram detectadas para PLCG e PLCE e tendências ( $P<0,10$ ) para a eficiência alimentar expressa como (PLCG/CMS) e (PLCE/CMS) e estabilidade do leite no teste do álcool. Vacas que receberam o plano nutricional 1,89%PC apresentaram maior ( $P<0,05$ ) PLCG e PLCE em relação às vacas que receberam o plano nutricional 1,69% PC. As vacas que receberam o plano nutricional de 1,69%PC tenderam ( $P<0,10$ ) a apresentar pior eficiência alimentar em relação àquelas que receberam o plano nutricional 1,89% do PC. Vacas que receberam o plano nutricional de 1,89%PC tenderam ( $P<0,10$ ) a produzir leite menos estável no teste do álcool que àquelas que receberam o plano nutricional de 1,69%PC.

## DISCUSSÃO

Estudos realizados com vacas *Bos taurus taurus*, na sua maioria usando a raça Holandês evidenciaram que a elevação do plano nutricional além do necessário para atender as exigências do final da gestação pode aumentar o ECC, provocar a redução do consumo nos dias que antecedem o parto, aumentar a resistência do tecido adiposo à insulina, promovendo a elevação dos AGNE, o que leva à saturação hepática, lipólise, maior produção de corpos cetônicos (Gonzalez et al., 2017) e gera um ciclo vicioso de mobilização de gordura e redução no CMS pré e pós parto (Grummer et al., 2004; Cardoso et al., 2013; Drackley e Cardoso, 2014 e Akbar et al., 2015). Isso provoca aumento do estresse oxidativo (Abuelo et al., 2015), além de aumentar a intensidade da

inflamação no período de transição (Crookenden et al., 2017; Wankhade et al., 2017) exacerbando o balanço energético negativo (Vailati-Ribon et al., 2016).

No presente estudo, o plano nutricional equivalente a 1,89% do PC foi calculado para suprir 130% das exigências de gestação de vacas Holandes. Efetivamente o fornecimento de nutrientes em excesso tendeu a aumentar o ECC nos últimos 21 dias antes do parto, ficando acima dos 3 pontos (escala de 1 a 5) preconizados por Garnsworthy et al. (2006) para animais da raça Holandês de baixo mérito genético e dos 3,5 pontos preconizados por Lopes et al. (2015) para animais zebuínos ou cruzas (escala 1 a 5) antes do parto, ocorrendo tendência para a redução do CMS no pré parto. A redução de consumo é associada com aumento do catabolismo lipídico ainda no pré parto, como por exemplo o aumento dos AGNE (Roche et al., 2015; Janovick et al., 2011). Efetivamente, embora tenha tendido a aumentar o consumo de energia metabolizável nos primeiros 21 dias do pós parto, o plano nutricional mais elevado tendeu a aumentar a concentração de AGNE, BHB e glicose no pós parto.

Destacamos que o consumo da dieta para o período pré parto foi de 1,16 %PC para novilhas Girolando F1 e 1,33%PC para novilhas Holandês, abaixo de 1,4% PC, ou seja, abaixo do valor sugerido para atender as exigências de manutenção e gestação durante o período de 7 a 10 dias antes do parto para vacas Holandês (Block et al., 2010).

O fornecimento de nutrientes em excesso no plano nutricional 1,89%PC, com tendência de maior concentração de AGNE aumentou indicadores do estresse oxidativo como DCFE e o marcador de oxidação protéica carbonilas no pré parto. Em outros estudos, planos nutricionais elevados foram associados com aumento do estresse oxidativo (Firuzi et al., 2006; Abuelo et al., 2015; Vailati-Riboni et al., 2017). Também foram confirmadas a tendência de melhoria na eficiência alimentar e a maior produção

leiteira observados em outros estudos ofertando distintos aportes nutricionais (Gabbi et al., 2015; 2018). Amenor estabilidade do leite no teste do álcool observada em vacas recebendo plano nutricional elevado pode ter sido associada aos indicadores de inflamação e mobilização tecidual, uma vez que ocorrência de distúrbios metabólicos foi associada à redução de estabilidade (Fagnani et al., 2014).

Por outro lado, no presente estudo, as concentrações de cálcio sanguíneo estiveram abaixo de 8 mg/d durante toda a transição, independentemente das ofertas. Valores abaixo desse limiar indicam hipocalcemia subclínica (Goff, 2009). A maior concentração de cálcio no sangue durante o pré parto para vacas que receberam o plano nutricional acima das exigências de gestação pode ser relacionada à tendência de menor consumo (Roche et al. 2005; 2007; 2016). Roche et al. (2016) hipotetizam que o nível de ingestão de EM pode afetar mecanismos eucalcêmicos que, até agora, não foram considerados.

Nossa hipótese de que vacas Girolando F1 ( $\frac{1}{2}$  Holandês  $\frac{1}{2}$  Gir) apresentem respostas distintas às das vacas Holandês durante o período de transição frente a planos nutricionais distintos recebidos durante a gestação foi parcialmente aceita. Apesar de não termos encontrados interação entre plano nutricional e composição racial, exceto para a enzima antioxidante GPx, as vacas Girolando F1 apresentaram ECC superior e menor consumo de matéria seca em relação às vacas Holandes durante a transição, independentemente do plano nutricional, indicando que o nível de 1,69% do PC foi excessivo e que animais Girolando F1 provavelmente necessitam de estratégias alimentares diferentes comparados aos animais Holandês no período de transição.

As diferenças de consumo no pré parto entre os grupos genéticos, com menor valor para as novilhas Girolando F1 em relação às da raça Holandês podem ser devido,

em parte, às suas menores exigências nutricionais, pelo menor metabolismo basal e maior adaptação ao calor. Por outro lado, o menor consumo no pré parto verificado nas novilhas Girolando F1 pode estar relacionado ao maior ECC em relação às novilhas da raça Holandês durante todo o período pré parto. O elevado ECC pré parto parece também modificar a concentração de creatinina, uma vez que os animais Girolando F1 apresentaram maior elevação nos dias -10 e -6. Apesar dos valores de creatinina estarem acima do limiar para as duas composições raciais no período de transição (0,99 a 1,06 mmol/ ASCCP, 2001), vacas com menor ECC possuem menor massa muscular, e a concentração de creatinina plasmática tende a ser menor em relação a vacas com alto ECC (Pires et al., 2013; Kokkonen et al., 2005).

Os maiores valores de ECC durante o pré parto dos animais Girolando F1 em relação aos da raça Holandês não influenciaram as variações de ECC no pós parto e tampouco na retomada de consumo após o parto. De acordo com a teoria da oxidação hepática (Hayirli et al., 2002; Allen et al., 2009; Akbar et al., 2015), o elevado ECC durante o pré parto e as perdas de ECC durante o pós parto podem dificultar a retomada de consumo após o parto. A retomada de consumo em nosso experimento foi distinta entre as composições raciais somente a partir do 10º dia após o parto, com os maiores valores observados para os animais Holandês.

As diferenças fisiológicas entre os dois grupos genéticos podem explicar porque não foram encontradas diferenças entre as variações de EEC no pós parto. Vacas *Bos taurus taurus* apresentam maior deposição de gordura visceral, quando comparada às vacas *Bos taurus indicus*, as quais apresentam maior deposição de gordura subcutânea. A gordura visceral pode ser metabolizada de forma mais rápida e em maior quantidade que a gordura subcutânea (Thompson et al., 1983), e dessa forma, a mobilização de

tecido adiposo poderia ser menos perceptível nos animais Girolando F1 em relação aos da raça Holandês. Esse resultado vai ao encontro dos valores observados quanto à concentração de AGNE, que foi maior para animais Girolando F1 somente no dia do parto apesar dos maiores ECC durante todo período experimental em relação às vacas Holandês.

Os maiores valores de produção de leite observado nas vacas da raça Holandês nos primeiros dias após o parto incrementaram as exigências nutricionais e contribuíram para aumentar o consumo de matéria seca e energia metabolizável durante os últimos dias do período de mensuração em relação às vacas Girolando F1. O mérito genético para produção de leite pode ser um dos principais fatores das diferenças metabólicas entre as composições raciais no pós parto. No presente estudo, a concentração de glicose foi mais elevada nos animais Girolando F1 em relação aos da raça Holandês durante o pós parto. O metabolismo da glicose é distinto entre animais da raça Holandês e Girolando F1. Análises de hepatócitos revelaram que as concentrações de glicose são elevadas em animais Girolando F1, devido ao aumento da enzima metilmalonil-CoA mutase, responsável pela entrada do metilmalonil coa no ciclo de Krebs para formar succinil- CoA. A maior quantidade dessa enzima está ligada ao processo de distribuição de glicose para os tecidos e redução do processo homeorrético de glicose direcionando esse metabólito prioritariamente para glândula mamária (Laguna et al., 2017), provavelmente indicando que animais *Bos taurus indicus* não apresentam o desacoplamento do eixo somatotrófico após o parto (Bariselli et al. 2007). Os animais Girolando F1 podem apresentar um padrão de exigências nutricionais intermediários entre os *Bos taurus indicus* e os *Bos taurus taurus* (Borges et al., 2015). O menor fluxo de glicose para glândula mamária pode explicar a menor produção de leite das

Girolando F1 nos dias 2, 4 e 5 comparadas com as vacas da raça Holandês (Guinard-Flament et al., 2007).

O aumento na concentração de AGNE e BHB na corrente sanguínea pode comprometer a atividade oxidativa (Contreras et al., 2012; Li et al., 2016; Laubenthal et al., 2017). Estudos anteriores mostraram que o estresse oxidativo é um fator importante que pode contribuir para o aumento das respostas inflamatórias durante o período de transição devido aos desequilíbrios na expressão de espécies reativas ao oxigênio e disponibilidade de defesas antioxidante (Sordillo e Aitken, 2009).

No presente estudo, ainda que sem diferenças significativas, 33% das novilhas da raça Holandês apresentaram as concentrações de BHB acima do limiar durante o período pré parto e 67% das vacas da raça Holandês foram consideradas com cetose subclínica e 8% cetose clínica no pós parto; enquanto as Girolando F1, 67% apresentaram BHB acima do limiar no pré parto e 50% das vacas apresentaram cetose subclínica no pós parto, mas não foram detectados casos de cetose clínica.

Apesar do AGNE e BHB excessivo durante o período de transição independente dos planos nutricionais, não houve diferenças entre as composições raciais para a produção de espécies reativas ao oxigênio, o que contraria os resultados de outros estudos (Contreras et al., 2012; Li et al., 2016; Laubenthal et al., 2017). Por outro lado, o aumento de GPx no plano nutricional 1,69% comparado com 1,89% do PC em vacas da raça Holandês, pode também estar relacionada à tendência menor produção de leite corrigida para gordura e energia nesta oferta (Castillo et al., 2003; Lohrke et al., 2004) e às diferenças metabólicas encontradas entre as composições raciais.

As vacas Girolando F1 poderiam estar com níveis de AGNE mais elevados devido ao maior ECC em relação às novilhas Holandês no pré parto, o que poderia

aumentar os ROS e reduzir as enzimas antioxidantes. Entretanto devido às diferenças de mobilização tecidual (BHB e AGNE) entre as composições raciais (Thompson et al., 1983), não foram detectadas diferenças de AGNE entre as composições raciais no período pós parto .

Vacas da raça Holandês produziram mais leite nos dia 3, 4 e 5 e tenderam a produzir mais leite do dia 6 ao dia 12 em relação às Girolando F1, mas essas diferenças não foram associadas às diferenças no consumo de MS e EM, estando ligadas mais à maior mobilização tecidual e resultando em melhor eficiência de produção.

A tendência de maior concentração de gordura durante o dia 9 para as vacas Girolando F1 em relação às vacas da raça Holandês pode estar relacionada a fatores genéticos, pois animais *Bos indicus* possuem maior quantidade do alelo B-lactoglobulina, responsável pela maior quantidade de gordura no leite (Bovenhuis et al.,1992).

O aumento da concentração de lactose como verificado em nosso estudo, em função do incremento do aporte nutricional para vacas Holandes já foi constatada em diversos estudos (Stumpf et al., 2013; Gabbi et al., 2015 e 2018) e provavelmente é relacionado ao aumento do fluxo sanguíneo para a glândula mamária (Guinard- Flement et al., 2013) o que se refletiu na tendência de maior produção de leite corrigida para gordura e energia em vacas Holandes em relação a Girolando F1.O maior valor de lactose no leite de vacas Holandês comparado com as Girolando F1pode ser devido ao maior valor numérico de CCS.

## CONCLUSÃO



Vacas Girolando F1 (½ Holandês ½ Gir) apresentam algumas respostas distintas às vacas Holandês durante o período de transição frente a planos nutricionais recebidos durante a gestação. Valores distintos de creatinina no pré parto e de glicose e GPx no pós parto podem indicar diferenças no metabolismo entre as composições racias.

A maior deposição de reservas corporais nas vacas Girolando F1 comparadas com as vacas Holandês durante o período de transição, indica que o fornecimento plano nutricional previsto para vacas Holandês pode não ser adequado.

### **AGRADECIMENTOS**

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pelos recursos concedidos no projeto 473562/2012-0 e bolsas de estudo e de produtividade, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelas bolsas de estudo, à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA Gado de Leite, pelo financiamento, cessão dos animais, estrutura e colaboradores do centro nacional de pesquisa em gado de leite para a realização do experimento.

### **REFERÊNCIAS**

Abaker, J.A., T. L. Xu, D. Jin, G. J. Chang, K. Zhang, and X. Z. Shen, 2017.

Lipopolysaccharide derived from the digestive tract provokes oxidative stress in the liver of dairy cows fed a high-grain diet. *J. Dairy Sci*, 100:1–13.  
[doi.org/10.3168/jds.2016-10871](https://doi.org/10.3168/jds.2016-10871)

- Abuelo, A., J.Hernandez, J. L.Benedito and C. Castillo, 2015. The importance of the oxidative status of dairy cattle in the periparturient period: revisiting antioxidant supplementation. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 99, 1003–1016. doi: 10.1111/jpn.12273
- Allen, M.S .B. J. Bradford and M. Oba, 2009. BOARD-INVITED REVIEW: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants.*J. Anim. Sci.*,v.87,p. 3317- 3334
- ASVCP (American Society for Veterinary Clinical Pathology). 2011. ASVCP Reference Interval Guideline. Guidelines for the determination of reference intervals (RI) in veterinary species.
- Association of official analytical chemists (AOAC). *Official methods of analysis*.18.ed. Arlington: AOAC International, 1995. 1025p.
- Akbar, H., T.M.Grala, M. Vailati Riboni, F.C. Cardoso, G.Verkerk, J. McGowan, K. Macdonald, J. Webster, K. Schutz, S .Meier, L. Matthews, J.R. Roche, and J.J. Loor, 2015. Body condition score at calving affects systemic and hepatic transcriptome indicators of inflammation and nutrient metabolism in grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 98, p.1019–1032. doi: 10.3168/jds.2014-8584
- Baruselli, P.S., L.U. Gimenes, J.N.S. Sales. 2007 Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.31, n.2, p.205-211.
- Bell, A. W., W. S. Burhans, and T. R. Overton., 2000. Protein nutrition in late pregnancy, maternal protein reserves and lactation performance in dairy cows. *Proc. Nutr. Soc.* 59:119–126

- Bae, H., Jeong, C., Cheng, W., Hong, K., Seo, H. and Han, S., 2017. Oxidative stress-induced inflammatory responses and effects of N-acetylcysteine in bovine mammary alveolar cells. *Journal of Dairy Research*, 84(4), 418-425. doi:10.1017/S002202991700067X
- Block, E. Transition cow research – What makes sense today? High Plains Dairy Conference 75, Amarillo, Texas. 2010.
- Borges, A. L. C. C., R. M. A. Texeira., E. A. Silva, L. Fernandes, J. R. M. Ruas, D. S. Queiroz and H. F. Lage, 2015. Desempenho nutricional de bovinos leiteiros. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, Brasil, v.36, p. 88-99.
- Bovenhuis, H.; A. M. Johan, V. Arendonk, S. Korver, 1992. Association between milk protein polymorphisms and milk production traits. *J. Dairy Sci.*, v.75, p.2549-2559.
- Bradford, B. J., K. Yuan, J. K. Farney, L. K. Mamedova and A. J. Carpenter, 2015. Invited review: Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame *J. Dairy Sci.* 98:6631–6650. DOI:10.3168/jds.2015-9683
- Bruckmaier, R. M., J. W. Blum, 1998 Oxytocin release and milk removal in ruminants. *Journal of Dairy Science*, v. 82, p. 939 – 949.
- Butler, M., J. Paton, J. J. Murphy and F. J. Mulligan. 2011. Evaluation of a high-fibre total mixed ration as a dry cow feeding strategy for spring-calving Holstein Friesian dairy cows. *Livestock Animal Science*, Amsterdam, v. 136, p. 85–92. DOI: doi.org/10.1016/j.livsci.2010.08.003

- Cardoso, F. C.; S. J. LeBlanc, M. R. Murphy and J. K. Drackley, 2013. Prepartum nutritional strategy affects reproductive performance in dairy cows. *Journal of dairy science*, v.96, p.5859-5871.
- Castillo, C., J. Hernandez, M. Lopez-Alonso, M. Miranda, J.L. Benedito, 2003. Values of plasma lipid hydroperoxides and total antioxidant status in healthy dairy cows: preliminary observations. *Archiv für Tierzucht* 46, 227–233.
- Chibisa, G. E., G. N. Gozho, A. G. Van Kessel, A. A. Olkowski, and T. Mutsvangwa, 2008. Effects of peripartum propylene glycol supplementation on nitrogen metabolism, body composition, and gene expression for the major protein degradation pathways in skeletal muscle in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91:3512–3527.
- Chizzotti, M.L., F.S. Machado, E.E.L. Valente, L.G.R. Pereira, M.M. Campos, T.R. Tomich, S.G. Coelho, and M.N. Ribas. 2015. Technical note: Validation of a system for monitoring individual feeding behavior and individual feed intake in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 98:3438–3442. doi:10.3168/jds.2014-8925.
- Contreras, G.A, W. Raphael, S. A. Mattmiller, J. Gandy and L. M. Sordillo, 2012. Nonesterified fatty acids modify inflammatory response and eicosanoid biosynthesis in bovine endothelial cells *J. Dairy Sci.* 95:5011–5023 [http://dx.doi.org/ 10.3168/jds.2012-5382](http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-5382)
- Crookenden, M. A. C. G. Walker, A. Heiser, A. Murray, V. S. R. Dukkupati, J. K. Kay, S. Meier, K. M. Moyes, M. D. Mitchel, J. J. Looor and J. R. Roche, 2017. Effects of precalving body condition and prepartum feeding level on gene expression in circulating neutrophils *J. Dairy Sci.* 100:2310–2322 [doi.org/10.3168/jds.2016-12105](http://doi.org/10.3168/jds.2016-12105)

- Dann, H. M., N. B. Litherland, J. P. Underwood, M. Bionaz, A. D'Angelo, J. W. McFadden and J. K. Drackley. 2016 Diets during far-off and close-up dry periods affect periparturient metabolism and lactation in multiparous cows. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 89, p. 3563–3577. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72396-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72396-7)
- Drackley, J. K., H. M. Dann, G. N. Douglas, N. A. Janovick Guretzky, N. B. Litherland, J. P. Underwood and J. J. Looor, 2005. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. *Ital. J. Anim. Sci.* 4:323–344.
- Drackley, J. K., *Steady as She Goes: Rethinking Dry Cow Nutrition*. In: Mid-south ruminant nutrition conference, 2008, Arlington, Texas. Proceedings... Texas, [s.n.], 2008.
- Drackley, J. K. and H. M. Dann, 2008. A scientific approach to feeding dry cows. Chapter 3 in *Recent Advances in Animal Nutrition – 2007*. P. C. Garnsworthy and J. Wiseman, ed. Nottingham University Press, Nottingham, UK.
- Drackley, J. K. and F. C. Cardoso, 2014. Prepartum and postpartum nutritional management to optimize fertility in high-yielding dairy cows in confined TMR systems. *Animal*, INRA, France, v. 8, n. s1, p. 5-14.
- Drackley, J. K., R. L. Wallace, D. Graugnard, J. Vasquez, B. F. Richards and J. J. Looor 2014. Visceral adipose tissue mass in nonlactating dairy cows fed diets differing in energy density. *Journal of Dairy Science*, v. 97, n. 6, p. 3420-3430. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8014>

- Drakley, J. K., N. A. Janovick. Controlled energy diets for dry cows. In: Proc. 8th Western Dairy MGT. Conf., 2007. RENO, NV. Proceedings... Reno, NV Oregon St. Univ., Corvallis, 2007. P. 7-16.
- Edmonson, A. J., I. J. Lean, L.D. Weaver, T. Farver and G. Webster. 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.72, p.68-78
- Fagnani, R., V. Beloti, A. P. P. Battaglini, 2014 Acid-base balance of dairy cows and its relationship with alcoholic stability and mineral composition of milk. *Pesq. Vet. Bras.* v.34 n.5. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2014000500002>
- Firuzi, O., P. Mladenka, V. Riccieri, A. Spadaro, R. Petrucci, G. Marrosu, et al. 2006. Parameters of oxidative stress status in healthy subjects: their correlations and stability after sample collection. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, v. 20, p. 139-148.
- Fonseca, L. F. L. and M. V Santos, 2000 *Qualidade do leite e controle de mastite*. São Paulo: Lemos Editorial, p.39-141.
- Ford Junior, J. A., C. S. Park, 2001. Nutritionally directed compensatory growth enhances heifer development and lactation potential. *Journal of Dairy Science*, Savoy, v. 84, n. 7, p. 1669-1678.
- Gabbi, A. M, C. M Mcmanus, M. B. Zanela, M. T. Stumpf, R. S. Barbosa, V. Fruscalso, N. A. Thaler, F. A. Schmidt, V. Fischer, 2015 Milk traits of lactating cows submitted to feed restriction. *Tropical Animal Health and Production*, v. 47, p. 1.
- Gabbi, A.M., C.M. McManus, L.T. Marques, A.S. Abreu, S.C. Machado, M.B. Zanela, R.S. Barbosa and V. Fischer, 2018 Different levels of supplied energy

- for lactating cows affect physicochemical attributes of milk. *Journal of Animal and Feed Sciences*, v.27, p.11–17
- Garnsworthy, P. and J. Topps, 1982. The effect of body condition of dairy cows at calving on their food intake and performance when given complete diets. *Animal Science*, 35(1), 113-119. doi:10.1017/S0003356100000878.
- Garnsworthy, P. C., 2006. Body condition score in dairy cows: Targets for production and fertility. Pages 61–86 in *Recent Advances in Animal Nutrition*. P. C. Garnsworthy and J. Wiseman, ed. Nottingham University Press, UK.
- Garro, C.J., L. Mian, M. Cobos Roldán, 2014. Subclinical ketosis in dairy cows: prevalence and risk factors in grazing production system. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, Bogen, Germany, v.98 pg. 838–844.
- Ghiselli, A., M. Serafini, F. Natella, C. Scaccini, 2000. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radical Biological Medicine* 29, 1106– 1114.
- Goff, J.P., 2009. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal*, v.176, n.1, p.50–57.
- Gonzalez, F.H.D., Silva, S.C. 2017 *Introdução a bioquímica clinica Veterinária* Ed. 3 pp.535.
- Gruber, L., M. Urdl, W. Obitzhauser, A. Schauer, J. Häusler, B. 2014. Influence of energy and nutrient supply pre and post partum on performance of multiparous Simmental, Brown Swiss and Holstein cows in early lactation. *Animal*, 8:1, pp 58–71. doi: 10.1017/S1751731113001894

- Grummer, R. R., D. G. Mashek, A. Hayirli. 2004 Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet. Clin. Food Anim.*, v.20, p.447-470,
- Guinard-Flament, J., E. Delamaire, P. Lambertson, J. L. Peyraud, 2007. Adaptations of mammary uptake and nutrient use to once-daily milking and feed restriction in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 90: 5062-5072.
- Hayirli, A., 2002. Animal and Dietary Factors Affecting Feed Intake During the Prefresh Transition Period in Holsteins. *Journal of Dairy Science*, Volume 85, Issue 12, December 2002, Pages 3430–3443.
- IDF. 2000. INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Determination of milkfat, protein and lactose content – Guidance on the operation of mid-infrared instruments. (IDF, Brussels), 15.
- Iqbal, S. Q., Q. Zebeli, D. A. Mansmann, S. M. Dunn and B. N. Ametaj, 2013 Effects of prepartal oronasal administration of lipopolysaccharide on milk composition and productivity of transition Holstein cows. *Open Journal Animal Science*, v.3, p.200-209.
- Janovick Guretzky, N. A., N. B. Litherland, K. M. Moyes, and J. K. Drackley. 2006 Parturition energy intake effects on health and lactational performance in primiparous and multiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 89(Suppl. 1), p.267.
- Janovick, N.A., Y.R. Boisclair, J.K Drackley. 2011 Parturition dietary energy intake affects metabolism and health during the periparturient period in primiparous and multiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 94, p.1385–1400. doi: 10.3168/jds.2010-3303.



- Kolling, Giovani & Stivanin, s.C.B. & Gabbi, Alexandre & Machado, Fernanda & Ferreira, A.L. & Campos, Mariana & Tomich, Thierry & Soares Cunha, Camila & Dill, S.W. & Pereira, Luiz & Fischer, Vivian. 2018. Performance and methane emissions in dairy cows fed oregano and green tea extracts as feed additives. *Journal of Dairy Science*. 101, p. 4221-4234. [10.3168/jds.2017-13841](https://doi.org/10.3168/jds.2017-13841).
- Ji, P., J.S. Osorio, J.K. Drackley, J.J. Loo. 2012 . Overfeeding a moderate energy diet prepartum does not impair bovine subcutaneous adipose tissue insulin signal transduction and induces marked changes in peripartal gene network expression. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 95, p. 4333–4351. DOI:<https://doi.org/10.3168/jds.2011-5079>
- Lage H. F., 2015. Partição da energia e exigências nutricionais no terço final da gestação e avaliação do perfil metabólico durante o período de transição de vacas gir e f1 holandês x gir, tese de doutorado Universidade Federal de Minas Gerais.
- Lange J., A. McCarthy, J. Kay, S. Meier, C. Walker, M. A. Crookenden, M. D. Mitchell, J. J. Loo, J. R. Roche and A. Heiser, 2016. Prepartum feeding level and body condition score affect immunological performance in grazing dairy cows during the transition period *J. Dairy Sci.* 99:2329–2338 <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-10135>
- Laguna, J. G., M. S. Cardoso, J. A. Lima, R. B. Reis, A. U. Carvalho, H. M. Saturnino and S. M. R. Teixeira, 2017 Expression of hepatic genes related to energy metabolism during the transition period of Holstein and F1 Holstein-Gir cows *J. Dairy Sci.* 100:9861–9870 <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12459>

- Laubenthal L., L. Ruda, N. Sultana, J. Winkler, J. Rehage, U. Meyer, S. Dänicke, H. Sauerwein, and S. Häussler, 2017. Effect of increasing body condition on oxidative stress and mitochondrial biogenesis in subcutaneous adipose tissue depot of nonlactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100:1–11  
<https://doi.org/10.3168/jds.2016-12356>
- LeBlanc, S. J., K. E. Leslie, T. F. Duffield, 2005: Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 88, 159–170.
- Leite, H. P., R. S. Sarni. Radicais livres, antioxidantes e nutrição. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica*, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 87-94, 2003.
- Li Y., H. Y. Ding, X. C. Wang, S. B. Feng, X. B. Li, Z. Wang, G. W. Liu and X. W. Li, 2016. An association between the level of oxidative stress and the concentrations of NEFA and BHBA in the plasma of ketotic dairy cows *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition.* 100:844–851 DOI: 10.1111/jpn.12454
- Little, M. W., N. E. O’Connell, M. D. Welsh, J. Barley, K. G. Meade and C. P. Ferris, 2016. Prepartum concentrate supplementation of a diet based on medium quality grass silage: Effects on performance, health, fertility, metabolic function, and immune function of low body condition score cows. *J. Dairy Sci.* 99:7102–7122.  
<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-11071>
- Lohrke, B., T. T. Viergutz, W. Kanitz, K. Gollnitz, F. Becker, A. Hurtienne, F. J. Schweigert, 2004. High milk yield in dairy cows associated with oxidant stress. *Journal of Veterinary Research.* 8: 70–78.

- López-Gatius F., J. Yánis, D. Madriles Helm, 2015. Effects of body conditions score and score change on the reproductive performance of dairy cow: a meta-analysis. *Theriogenology*. v.59, n3/4, p.801-812.
- Lucy, M. C., H. Jiang, Y. Kobayashi, 2001. Changes in the somatotrophic axis associated with the initiation of lactation. *Journal Dairy Science*. 84:E113–E119 (E Suppl.).
- Mertens, D.R. 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. *Journal of AOAC International*. v.8:1217-1240.
- Miller, J.K., E. Brzezinska-Slebodzinska, F. C. Madsen, 1993. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *J. Dairy Sci.* 76, 2812–2823.
- National Research Council - NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 7.ed. Washington, D.C.: 2001. 381p.
- Parekh, H. K. 1986. A new formula for fat-corrected milk. *Ind. J. Anim. Sci.* 56:608–609.
- Pedernera, M., P. Celi, S. C. García, H. E. Salvin, I. Barchia, W. J. Fulkerson, 2010. Effect of diet, energy balance and milk production on oxidative stress in early-lactating dairy cows grazing pasture *The Veterinary Journal* 186 (2010) 352–357 doi:10.1016/j.tvjl.2009.09.003
- Pires, J. A. A., C. Delavaud, Y. Faulconnier, D. Pomiès, and Y. Chilliard, 2013. Effects of body condition score at calving on indicators of fat and protein mobilization of periparturient Holstein-Friesian cows *J. Dairy Sci.* 96 :6423–6439 <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-6801>

- Pogliani, F.C. and E. H. Birgel Junior, 2007. Valores de referência do lipidograma de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 44:373-383.
- Quiroz-Rocha, G. F., S. J. LeBlanc, T. F. Duffield, D. Wood, K.E. Leslie, R. M. Jacobs, 2009: Reference limits for biochemical and hematological analytes of dairy cows one week before and one week after parturition. *The Canadian Veterinary Journal* 50,383–388.
- Roche, J. R., E. S. Kolver, J. K. Kay, 2005. Influence of precalving feed allowance on periparturient metabolic and hormonal responses and milk production in grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Champaign v.88, p.677–689, doi:10.3168/jds.S0022-0302(05)72732-6.
- Roche, J.R., 2007. Milk production responses to pre- and postcalving dry matter intake in grazing dairy cows. *Livestock Science*, v. 110, p.12–24. doi:10.1016/j.livsci.2006.08.016.
- Roche, J. R., A. W. Bell, T. R. Overton and J. J. Loor. 2013 Nutritional management of the transition cow in the 21st century – a paradigm shift in thinking. *Animal Production Science*, v. 53, p.1000–1023. <https://doi.org/10.1071/AN12293>
- Roche, J. R, S. Meier, A. Heiser, M. D. Mitchell, C. G. Walker, M. A. Crookenden, M. Vailati Riboni, J. J. Loor, and J. K. Kay, 2015. Effects of precalving body condition score and prepartum feeding level on production, reproduction, and health parameters in pasture-based transition dairy cows *J. Dairy Sci.* 98:7164–7182 <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-9269>.
- Roche, J. R., A. Heiser, M. D. Mitchell, M. A. Crookenden, C. G. Walker, J. K. Kay, M. Vailati Riboni, J. J. Loor and S. Meier, 2016. Strategies to gain body

- condition score in pasture-based dairy cows during late lactation and the far-off nonlactating period and their interaction with close-up dry matter intake *J. Dairy Sci.* <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11591>.
- Rotta, P. P., S. C. Valadares Filho, T. R. S. Gionbelli, L. C. Silva, T. E. Engle, M. I. Marcondes and A. A. G. Lobo, 2015. Effects of day of gestation and feeding regimen in Holstein× Gyr cows: I Apparent total-tract digestibility, nitrogen balance, and fat deposition, *Journal Dairy Science*, v.98,iss 5, p. 3197-3210
- Schmidt H. H. H., F. D. Lisa. *Antioxidants & redox signaling*. 1 ed. Columbia (USA), volume 23, n. 14, 2015.
- Smith, G. L, N. C. Friggens, C. J. Ashworth and M. G. G. Chagunda, 2017. Association between body energy content in the dry period and post-calving production disease status in dairy cattle *Animal*, 11:9, pp 1590–1598 [doi:10.1017/S1751731117000040](https://doi.org/10.1017/S1751731117000040)
- Sordillo, L. M. and S. L. Aitken, 2009. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 128:104–109. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2008.10.305>
- Stumpf, M.T., V. Fischer, C. M. McManus, G. J. Kolling, M. B. Zanela, C. S. Santos, A. S. Abreu and P. Montagner. 2013 Severe feed restriction increases permeability of mammary gland cell tight junctions and reduces ethanol stability of milk. *Animal*, 7:1137-1142. [doi: 10.1017/S1751731113000128](https://doi.org/10.1017/S1751731113000128).
- Thompson, J. R., K. L. Lee, A. E. Freeman, and L. P. Johnson. 1983. Evaluation of a Linearized Type Appraisal System for Holstein Cattle. *J. Dairy Sci.* 66:325–331. [doi:10.3168/jds.S0022-0302\(83\)81792-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(83)81792-5).

- Tienken, R., S.Kersten, J. Frahm, L. Hüther, U. Meyer, K. Huber, J. Rehage and S. Dänicke  
2015 Effects of Prepartum Dietary Energy Level and Nicotinic Acid  
Supplementation on Immunological, Hematological and Biochemical Parameters  
of Periparturient Dairy Cows Differing in Parity Animals, 5(3), 910-933;  
doi:10.3390/ani5030391.
- Tronco, Vânia Maria. Manual para Inspeção da Qualidade do Leite. 2ª ed. Santa Maria:  
UFSM, 2003
- Vailati-Riboni, M., M. Kanwal, O. Bulgari, S. Meier, N. V. Priest, C. R. Burke, J. K.  
Kay, S. McDougall, M. D. Mitchell, C. G. Walker, M. Crookenden, A. Heiser, J.  
R. Roche and J. J. Loor, 2016. Body condition score and plane of nutrition  
prepartum affect adipose tissue transcriptome regulators of metabolism and  
inflammation in grazing dairy cows during the transition period. J. Dairy Sci.  
99:758–770. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10046>.
- Vailati-Riboni, M., G. Farina, F. Batistel, A. Heiser, M. D. Mitchell, M. A. Crookenden,  
C. G. Walker, J. K. Kay, S. Meier, J. R. Roche and J. J. Loor, 2017. Far-off and  
close-up dry matter intake modulate indicators of immunometabolic adaptations  
to lactation in subcutaneous adipose tissue of pasture-based transition dairy cows  
J. Dairy Sci. 100:1–17 <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11790>
- Vandehaar, M.J., G. Yousif, B. K. Sharma, T. H. Herdt, R. S. Emery, M. S. Allen and J.  
S. Liesman, 1999. Effect of Energy and Protein Density of Prepartum Diets on  
Fat and Protein Metabolism of Dairy Cattle in the Periparturient. Period Journal  
of Dairy Science Vol. 82, No. 6.
- Van Soest, P.J. 1981 Limiting factors in plant residues of low  
biodegradability. Agriculture and Environment, 6 pg. 135-143

- Vickers, L. A., D. M. Weary, D. M. Veira and M. A. 2012. Feeding a higher forage diet prepartum decreases incidences of subclinical ketosis in transition dairy cows. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 91, p.886–894. doi: 10.2527/jas.2011-4349
- Wankhade, P.R., A. Manimaran, A. Kumaresan , S. Jeyakumar , K. P. Ramesha, V. Sejian, D. Rajendran and M. R. Varghese, 2017. Metabolic and immunological changes in transition dairy cows: A review *Veterinary World*, EISSN: 2231-0916 doi: 10.14202/vetworld.2017. 1367-1377
- Zanela, M.B., M.E.R. Ribeiro and V. Fischer, 2009. Ocorrência do leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*,.61:1009-1013.
- Zhang, G., D. Hailemariam, E. Dervishi, S.A Goldansaz, Q Deng, S.M Dunn, B. and N. Ametaj, 2016. Dairy cows affected by ketosis show alterations in innate immunity and lipid and carbohydrate metabolism during the dry off period and postpartum. *Research in Veterinary Science*, 107:246–256 DOI:10.1016/j.rvsc.2016.06.012
- Zhou Bu, M., V. Riboni, M. J. Khan, D. E. Graugnard, J. Luo, F. C. Cardoso and J. J. Looor, 2015. Prepartal dietary energy level affects peripartal bovine blood neutrophil metabolic, antioxidant, and inflammatory gene expression. *J. Dairy Sci.* 98:5492–5505. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8811>.
- Kokkonen, T., J. Taponen, T. Anttila, L. Syrjälä-Qvist, C. Delavaud, Y. Chilliard, M. Tuori and A. T. Tesfa, 2005. Effect of body fatness and glucogenic supplement on lipid and protein mobilization and plasma leptin in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88:1127–114.

**Tabela 1** Composição química da TMR experimental fornecida no pré e no pós parto a fêmeas bovinas leiteiras Holandês e Girolando F1 durante o período de transição

Item	TMR Pré parto <sup>1</sup>		TMR Pós parto <sup>1</sup>	
	1,89%	1,69%	1,89%	1,69%
Ingredientes (kg/100kg de MS de dieta)				
Silagem de milho	44,6	44,6	62,0	62,0
Silagem de sorgo	37,4	37,4	-	-
Grão de milho moído	11,6	11,6	14,2	14,2
Farelo de soja	5,6	5,6	19,8	19,8
Mistura mineral	0,6	0,6	1,0	1,0
Calcário	0,1	0,1	0,6	0,6
Bicarbonato de sódio	-	-	1,0	1,0
Uréia	-	-	0,6	0,6
Sulfato de amônio	-	-	0,4	0,4
Oxido de magnésio	-	-	0,3	0,3
Fosfato bicálcico	-	-	0,1	0,1
Composição química (g/100 de MS de dieta)				
Energia bruta (Mcal/kg)	4,4		4,4	
Etrato etéreo (%)	3,5		3,3	



Proteína bruta (%)	13,5	16,5
Fibra em detergente neutro (%)	46,8	32,4
Fibra em detergente ácido (%)	28,3	18,2

---

<sup>1</sup>1,89% = oferta de 1,89% do PC de dieta totalmente misturada; 1,69% = oferta de 1,69% do PC de dieta totalmente misturada.

**Tabela 2.** Peso corporal (PC), escore de condição corporal (ECC) e variação de peso e de ECC de vacas leiteiras Holandês e Girolando F1(½ Holandês e ½ Gir) durante o período de transição recebendo planos nutricionais de 1,69% ou 1,89% do PC

Características	Composição Racial (R)			Oferta (O)			P>F	P>F	P>F	P>F	P>F	P>F	P>F
	½ Holandês e ½ Gir	Holandês	EP <sup>1</sup>	1,69%	1,89%	EP <sup>1</sup>	R	Oferta	Dia	R*O	R*D	O*D	R*D*O
<i>Peso Corporal (Kg)</i>													
Peso pré parto	794,01	784,2	22	784	794,22	19	0,79	0,71	<0,01	0,99	0,77	0,29	0,43
Peso pós parto	716,25	660,69	23	132,5	135,86	19	0,16	0,42	0,01	0,93	0,68	0,5	0,87
Variação de peso pós parto	-25,42	-23,5	15	-28,9	-20,82	15	0,85	0,41	-	-	-	-	-
<i>ECC</i>													
ECC pré parto	4,3 <sup>a</sup>	4,0 <sup>b</sup>	0,05	4,1 <sup>f</sup>	4,2 <sup>e</sup>	0,01	0,01	0,06	<0,01	0,99	0,01	0,57	0,19
ECC pós parto	4,0 <sup>a</sup>	3,5 <sup>b</sup>	0,01	3,7	3,8	0,07	0,02	0,4	<0,01	0,32	0,94	0,88	0,35
Variação ECC pós parto	-0,3	-0,3	0,02	-0,3	-0,2	0,02	0,97	0,55	-	-	-	-	-

<sup>1</sup> EP= Erro padrão a,b,c = médias seguidas por diferentes letras são significativas a 5% (P<0,05), e,f = médias seguidas por diferentes letras apresentam tendência (P<0,10).

**Tabela 3.** Consumo de MS, EB, FDN e PB de vacas leiteiras Holandês e Girolando F1 (½ Holandês e ½ Gir) durante o período de transição recebendo planos nutricionais de 1,69% ou 1,89% do PC

Variáveis	Composição Racial (R)			Oferta (O)			P>F						
	½ Gir	½ Holandês	EP <sup>1</sup>	1,69%	1,89%	EP <sup>1</sup>	R	O	Dias	R*O	R*D	O*D	O*D
<i>Pré parto</i>													
Consumo MS (kg/ pc <sup>0,75</sup> /dia)	0,05 <sup>b</sup>	0,07 <sup>a</sup>	0,03	0,07 <sup>e</sup>	0,06 <sup>f</sup>	0,02	0,04	0,06	<0,01	0,27	0,34	0,48	0,43
Consumo EM (Mcal/pc <sup>0,75</sup> /dia)	0,13	0,12	0,01	0,13	0,13	0,01	0,45	0,75	<0,01	0,31	0,27	0,4	0,19
Consumo PB (kg/ pc <sup>0,75</sup> /dia)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,82	0,5	<0,01	0,78	0,2	0,13	0,81
Consumo FDN (Kg/pc <sup>0,75</sup> /dia)	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	0,01	0,55	0,63	0,07	0,34	0,63	0,86	0,94
<i>Pós parto</i>													
Consumo MS (kg/ pc <sup>0,75</sup> /dia)	0,08	0,1	0,01	0,08	0,1	0,01	0,16	0,11	<0,01	0,55	0,02	0,4	0,93
Consumo EM (Mcal/ pc <sup>0,75</sup> /dia)	0,23	0,23	0,02	0,20 <sup>f</sup>	0,26 <sup>e</sup>	0,02	0,82	0,1	<0,01	0,53	0,02	0,71	0,97
Consumo PB (kg/ pc <sup>0,75</sup> /dia)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,76	0,54	<0,01	0,58	1,0	0,48	0,89
Consumo FDN (Kg/pc <sup>0,75</sup> /dia)	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,2	0,83	<0,01	0,55	0,76	0,67	0,88

<sup>1</sup> EP= Erro padrão a,b,c = médias seguidas por diferentes letras são significativas a 5% (P<0,05), e,f = médias seguidas por diferentes letras apresenta tendência (P>0,10).

**Tabela 4.** Parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras Holandês e Girolando F1 (½ Holandês e ½ Gir) durante o período de transição recebendo planos nutricionais de 1,69% ou 1,89% do PC

Variáveis	Composição Racial (R)			Oferta (O)			P>F	P>F	P>F	P> F	P> F	P>F	
	½ Holandês	½ Gir	Holandês	EP <sup>1</sup>	1,69%	1,89%	EP <sup>1</sup>	R	Oferta	Dias	R*O	R*D	O*D
<i>Pré parto</i>													
Cálcio (mg/dl)	7,76		7,27	0,2	7,13 <sup>b</sup>	7,90 <sup>a</sup>	0,2	0,23	0,04	0,12	0,73	0,35	0,23
Creatinina (mmol/l)	1,97 <sup>a</sup>		1,48 <sup>b</sup>	0,1	1,66	1,78	0,1	0,01	0,47	0,06	0,37	0,01	0,31
BHB <sup>2</sup> (mmol/l)	0,92		0,84	0,1	0,86	0,9	0,1	0,52	0,72	0,14	0,31	0,11	0,11
AGNE <sup>3</sup> (mmol/l)	0,89		0,73	0,1	0,72	0,89	0,1	0,37	0,33	0,05	0,77	0,01	0,03
Glicose (mg/dl)	78,2		66,03	4,1	69,15	74,95	4,4	0,43	0,73	0,14	-	-	-
<i>Pós parto</i>													
Cálcio (mg/dl)	7,57		7,25	0,2	7,21	7,61	0,2	0,53	0,29	0,52	0,69	0,14	0,17
Creatinina (mmol/l)	1,32		1,08	0,1	1,21	1,19	0,1	0,25	0,89	0,03	0,69	0,79	0,82
BHB (mmol/l)	1,11		0,98	0,8	0,89 <sup>f</sup>	1,20 <sup>e</sup>	0,7	0,41	0,06	<0,01	0,7	0,7	0,39
AGNE (mmol/l)	1,12		0,87	0,1	0,97	1,02	0,1	0,27	0,76	<0,01	0,26	0,31	0,38

Glicose (mg/dl)	65,64 <sup>a</sup>	58,5 <sup>b</sup>	2,0	61,41	62,73	1,8	0,04	0,62	0,92	0,72	0,4	0,04
-----------------	--------------------	-------------------	-----	-------	-------	-----	------	------	------	------	-----	------

---

<sup>1</sup>EP= erro padrão <sup>2</sup>BHB= betahidroxibutirato <sup>3</sup>AGNE= ácidos graxos não esterificados a,b,c = média seguidas por diferentes letras são significativas a 5% (P<0,05), f,g = média seguidas por diferentes letras apresentam tendência(P<0,10)

**Tabela 5.** Atributos do estresse oxidativo de vacas leiteiras Holandês e Girolando F1(½ Holandês e ½ Gir) durante o período de transição recebendo planos nutricionais de 1,89% ou 1,69% do PC

Variáveis	Composição Racial (R)			EP <sup>1</sup>	Oferta (O)		EP <sup>1</sup>	P>F	P>F	P>F	P>F	P>F	P>F
	½ Holandês	½ Gir	Holandês		1,69%	1,89%		R	Oferta	Dias	R*O	R*D	O*D
<i>Pré parto</i>													
Tiois <sup>2</sup> (nmol/mg)	0,22		0,23	0,2	0,24	0,22	0,1	0,72	0,59	0,09	0,69	0,06	0,33
DCF <sup>3</sup> plasma (nmo/mg)	13996		11336	1984	13847	11485	1748	0,41	0,37	0,05	0,67	0,15	0,34
Carbonilas (U/mg)	1,47		1,38	0,1	1,25 <sup>b</sup>	1,60 <sup>a</sup>	0,1	0,68	0,08	0,95	0,13	0,32	0,10
GSH <sup>4</sup> (U/mg)	0,15		0,17	0,1	0,16	0,16	0,1	0,62	0,90	0,18	0,43	0,72	0,15
DCF <sup>3</sup> eritrócitos (nmol/mg)	8625		9531	9078	7744 <sup>b</sup>	1,0412 <sup>a</sup>	817	0,55	0,04	0,03	0,77	0,74	0,02
GPx <sup>5</sup> (U/mg)	11,64		10,15	1,6	9,43	12,36	1,5	0,59	0,22	0,37	0,47	0,82	0,93
CAT <sup>6</sup> (U/mg)	0,59		0,65	0,4	0,63	0,61	0,4	0,43	0,76	0,16	0,10	0,13	0,65
SOD <sup>7</sup> (U/mg)	26,88		23,99	5,4	29,02	21,85	4,3	0,76	0,32	0,05	0,72	0,33	0,25
<i>Pós parto</i>													
Tióis	0,29		0,28	0,2	0,29	0,29	0,2	0,85	0,90	0,04	0,75	0,99	0,92

DCF plasma	30910	19794	42591	24915	25789	3563	0,13	0,87	0,03	0,23	0,11	0,01
Carbonilas	1,70	1,37	0,2	1,97 <sup>a</sup>	1,11 <sup>b</sup>	0,24	0,50	0,02	0,06	0,85	0,10	0,84
GSH	0,18	0,26	0,4	0,26	0,19	0,3	0,34	0,26	0,56	0,45	0,29	0,03
DCF eritrócitos	7601	9700	1510	9577	7723	1264	0,41	0,33	0,13	0,37	0,95	0,98
GPx	13,36	14,54	2,4	13,47	14,42	2,1	0,77	0,77	0,49	0,03	0,07	0,83
CAT	0,88	1,28	0,3	1,23	0,94	0,2	0,47	0,48	0,01	0,44	0,77	0,87
SOD	15,51	21,46	4,1	21,84	15,13	3,3	0,45	0,29	0,78	0,72	0,89	0,48

<sup>1</sup>EP= erro padrão <sup>2</sup>Tios= -SH, grupo das sulfidrilas <sup>3</sup>DCF= diclorofluoresceína diacetato <sup>4</sup>GSH=glutathione reduzida <sup>5</sup>GPx = glutathione peroxidase <sup>6</sup>CAT=catalase <sup>7</sup>SOD= superóxido desmutase, a,b,c = média seguidas por diferentes letras são significativas a 5% (P<0,05), e,f, g medias por diferentes letras apresentam tendência (P<0,10)

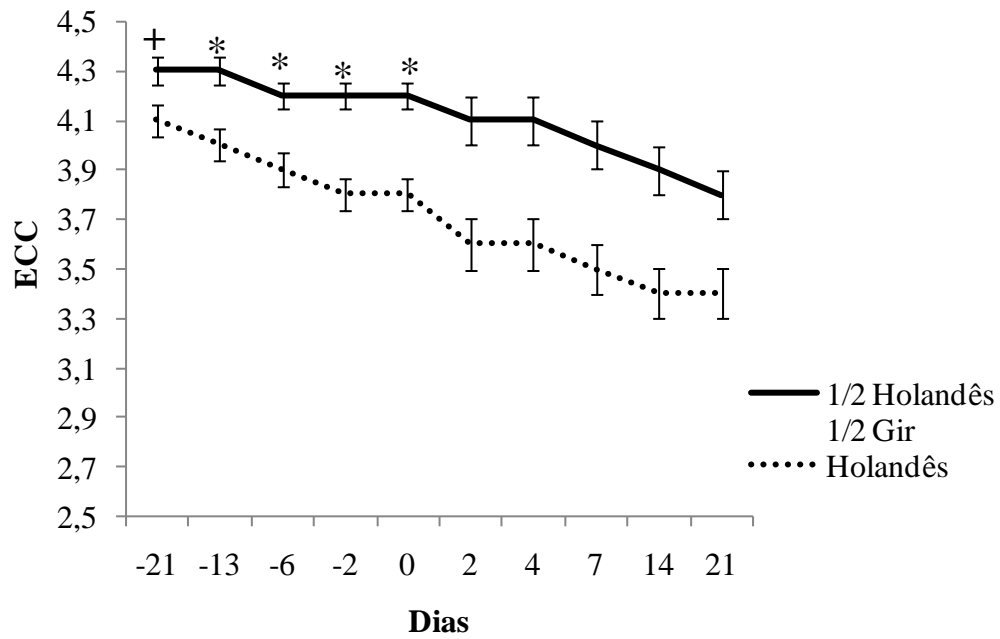
**Tabela 6.** Produção e atributos físico-químicos do leite de vacas leiteiras Holandês e Girolando F1 ( ½ Holandês e ½ Gir) durante o período de transição recebendo planos nutricionais de 1,89% ou 1,69% do PC

Variáveis	Composição Racial (R)		EP <sup>1</sup>	Oferta (O)		EP <sup>1</sup>	P>F	P>F	P>F	P>F	P>F	P>F
	½ Holandês e ½ Gir	Holandês		1,69%	1,89%		R	Oferta	Dias	R*O	R*D	O*D
Produção (kg/dia)	10,76 <sup>b</sup>	18,46 <sup>a</sup>	1,6	14,79	14,43	1,6	0,01	0,87	<0,01	0,33	<0,01	0,80
Eficiência alimentar (kg PLCG\kg MS)	2,1	1,9	0,3	2,5 <sup>e</sup>	1,5 <sup>f</sup>	0,3	0,78	0,06	0,17	0,40	0,40	0,39
Eficiência alimentar (kg PLCE\ kg MS)	1,8	1,8	0,2	2,2 <sup>e</sup>	1,4 <sup>f</sup>	0,2	0,96	0,07	0,11	0,33	0,51	0,44
PLCG <sup>2</sup> (kg)	16,97 <sup>f</sup>	20,82 <sup>e</sup>	1,3	16,31 <sup>f</sup>	18,45 <sup>e</sup>	1,3	0,09	0,07	0,66	0,59	0,23	0,76
PLCE <sup>3</sup> (kg)	14,93 <sup>f</sup>	19,45 <sup>e</sup>	1,3	13,18 <sup>f</sup>	14,11 <sup>e</sup>	1,2	0,09	0,09	0,61	0,56	0,28	0,74
Ig totais (mg/mL) colostro <sup>6</sup>	82	104	7,7	91	96	6,2	0,12	0,58	-	0,54	-	-
Estabilidade (% de etanol)	73	74	1,0	75 <sup>e</sup>	72 <sup>f</sup>	1	0,58	0,09	<0,01	0,72	0,13	0,56
pH	6,84	6,8	0,6	6,83	6,81	0,5	0,71	0,83	0,01	0,32	0,32	0,99
Gordura(g/100g)	5,08 <sup>e</sup>	4,18 <sup>f</sup>	0,3	5,00	5,22	0,3	0,08	0,11	0,28	0,25	0,04	0,48

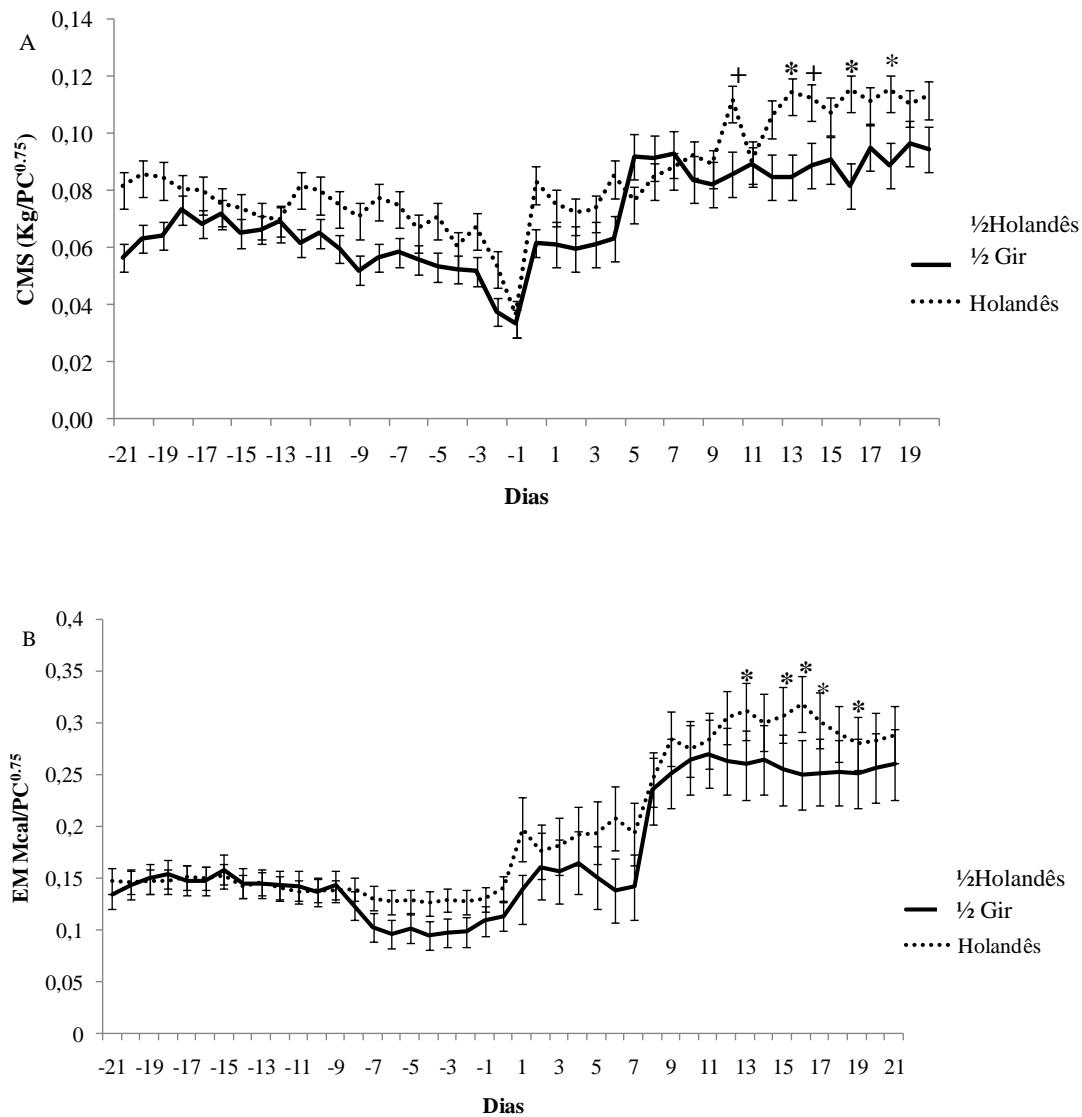


Proteína (g/100g)	3,33	3,16	0,1	3,10	3,38	0,1	0,41	0,14	0,03	0,83	0,18	0,13
Sólidos (g/100g)	13,98	13,21	0,3	13,79	13,10	0,3	0,18	0,11	0,47	0,14	0,58	0,48
ESD <sup>4</sup> (g/100g)	8,58	8,76	0,1	8,69	8,65	0,1	0,42	0,87	0,04	0,90	0,44	0,80
Uréia (mg/dL)	18,60	19,96	1,4	18,86	19,69	1,3	0,54	0,67	0,81	0,78	0,28	0,99
Lactose (g/100g)	4,11 <sup>b</sup>	4,63 <sup>a</sup>	0,1	4,24	4,49	0,1	0,03	0,26	0,32	-	-	-
CCS <sup>5</sup> manhã (10 <sup>3</sup> cel/mL)	657	386	317	540	503	317	0,58	0,93	0,23	-	-	-

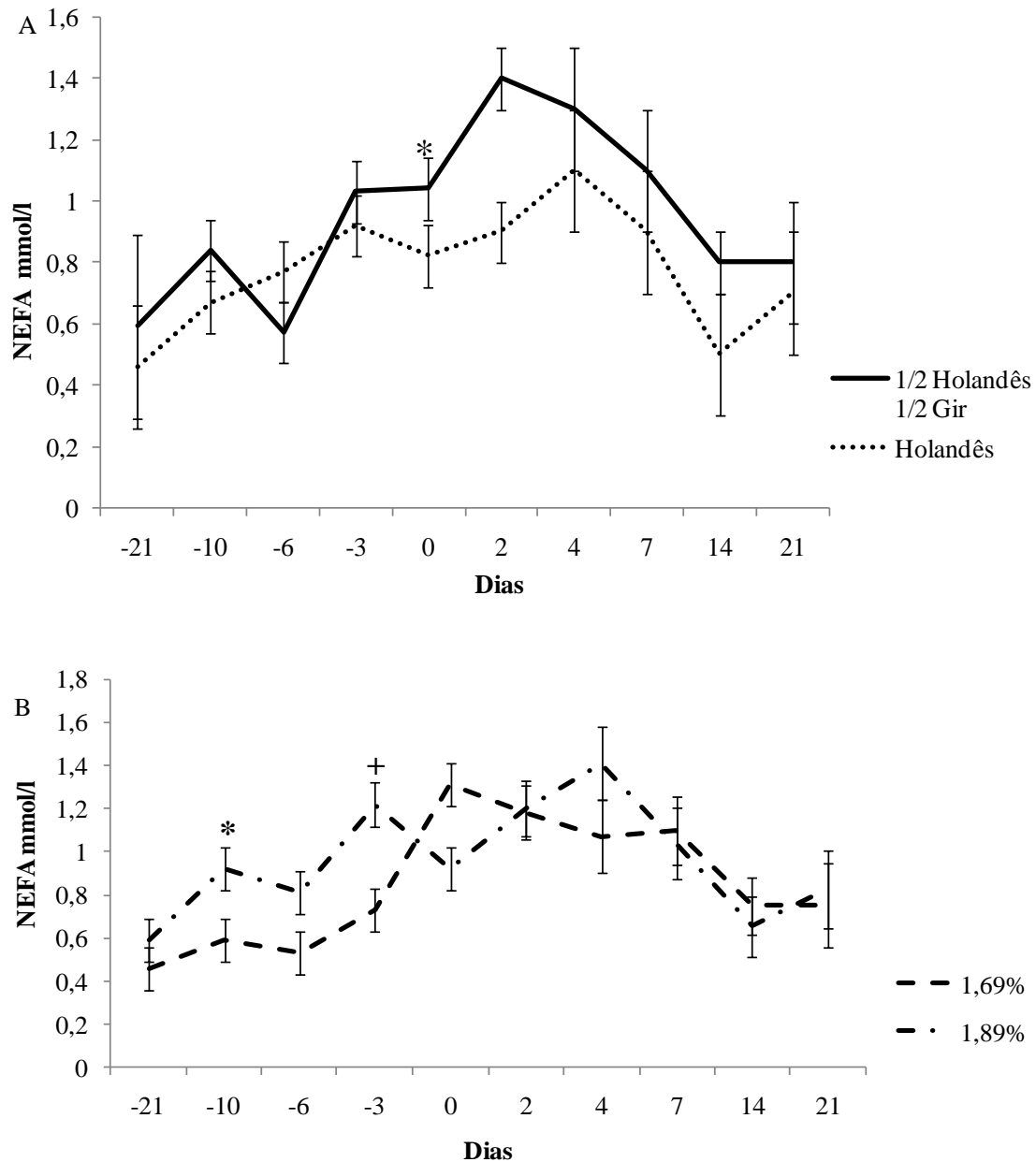
<sup>1</sup>EP= erro padrão <sup>2</sup>PLCG 3,5%=produção de leite corrigida para gordura<sup>3</sup>PLCE=produção de leite corrigida para energia<sup>4</sup>ESD=estrato seco desengordurado<sup>5</sup>CCS = contagem de células somáticas <sup>6</sup>Imunoglobulinas totais no colostro, a,b,c = média seguidas por diferentes letras são significativas a 5% (P<0,05), e,f = média seguidas por diferentes letras apresentam tendência (P<0,10).



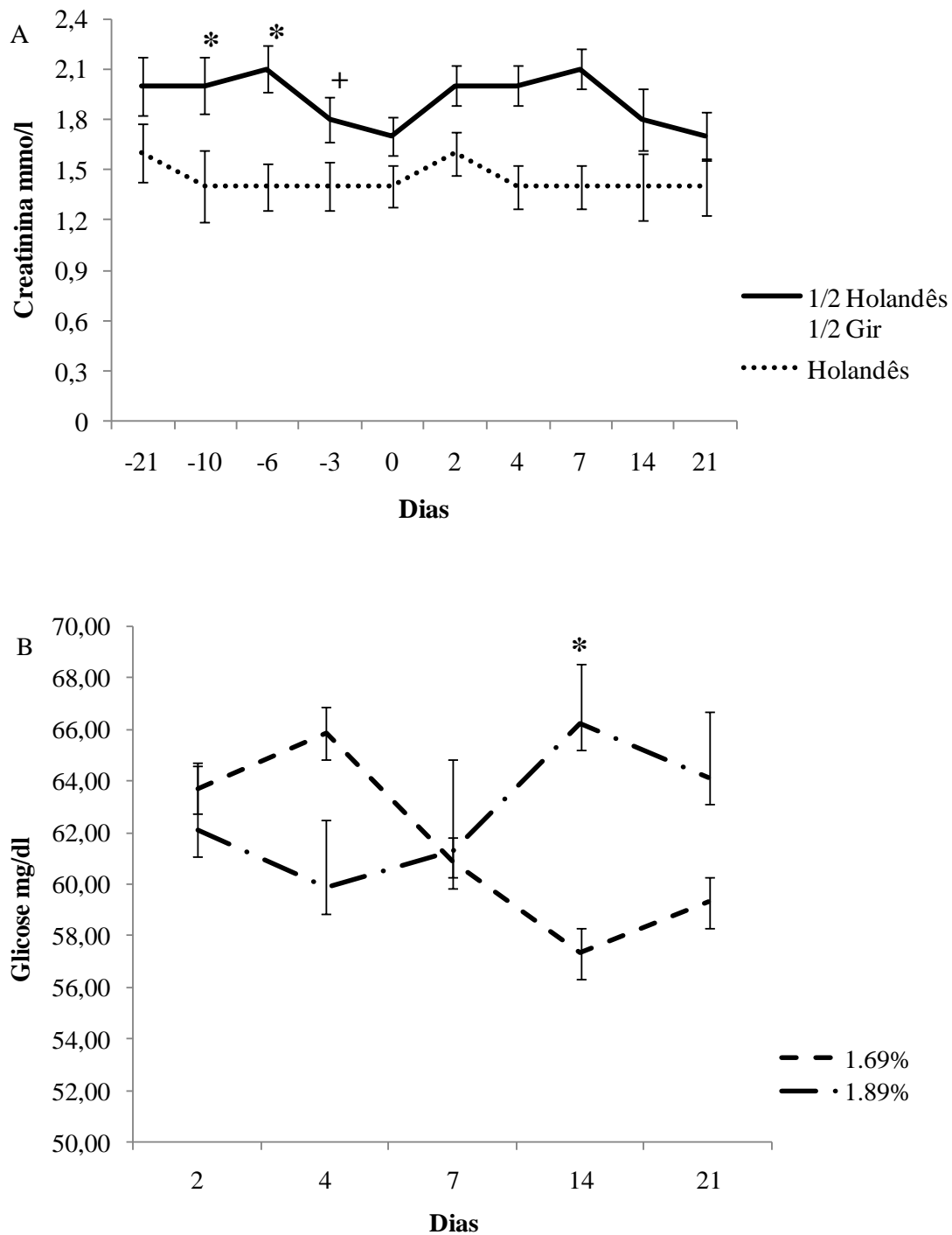
**Figura 1.** Escores de condição corporal de vacas leiteiras Holandês e 1/2 Holandês e 1/2 Gir durante o período pré parto ( -21 a 0 dias) e pós parto (1 a 21 dias),\* medias são diferentes( $P<0,05$ ), + as médias apresentam tendência ( $P<0,10$ ).



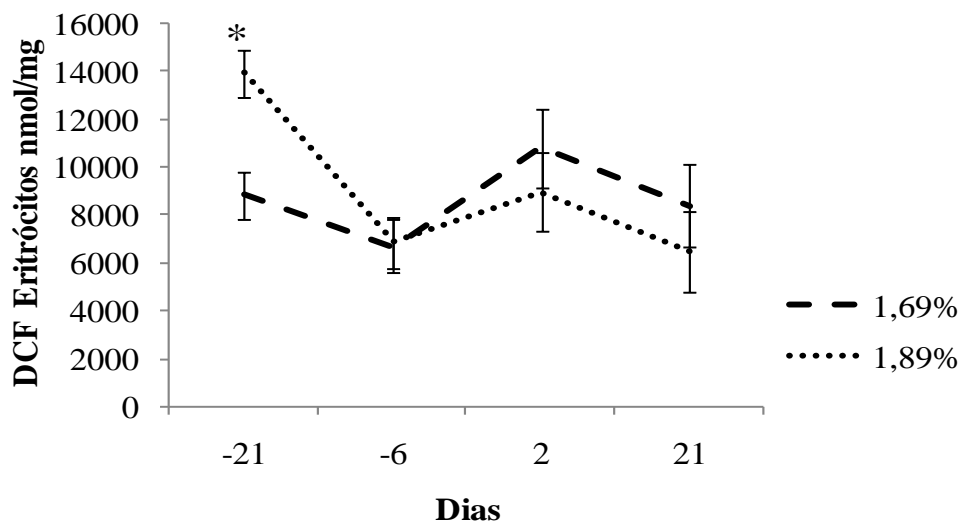
**Figura 2.** A) consumo de matéria seca (kg/pc<sup>0.75</sup>/dia) e B) consumo de energia metabolizável (Mcal/ pc<sup>0.75</sup>/dia) de vacas Giroalando F1 (1/2 Holandês 1/2 Gir)(-) e holandês (.....) durante o período pré (-21 a 0 dias) e pós parto (1 a 21),\* medias diferentes (P<0,05), + as médias apresentam tendência para diferenças (P<0,10).



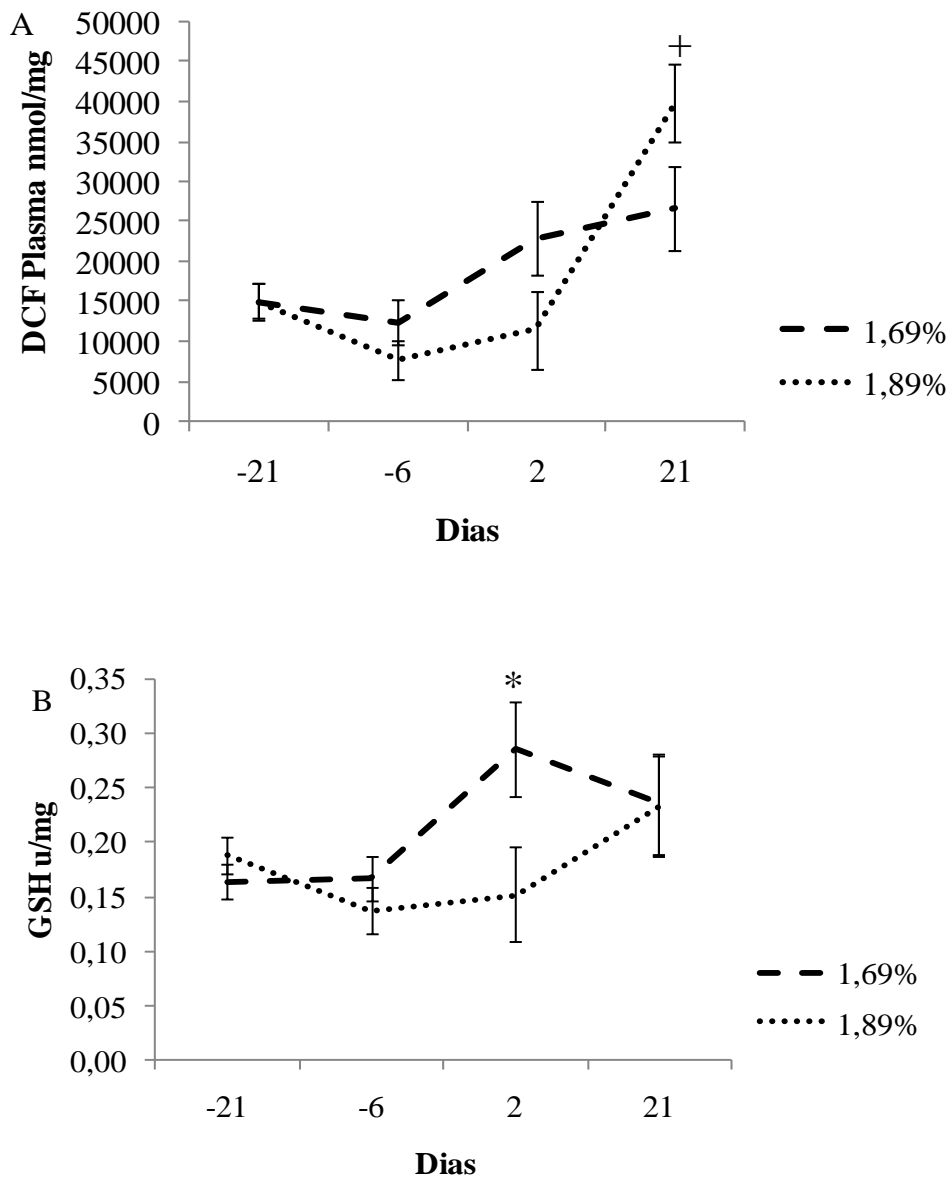
**Figura 3.** (A) valores de AGNE de vacas das composições raciais Girolando F1 (½ Holandês ½ Gir e Holandês) e (B) valores de AGNE de vacas recebendo os planos nutricionais de 1,69 e 1,89% do peso corporal durante o período de transição, \* médias são diferentes ( $P < 0,05$ ), + as médias apresentam tendência para diferenças ( $P < 0,10$ ).



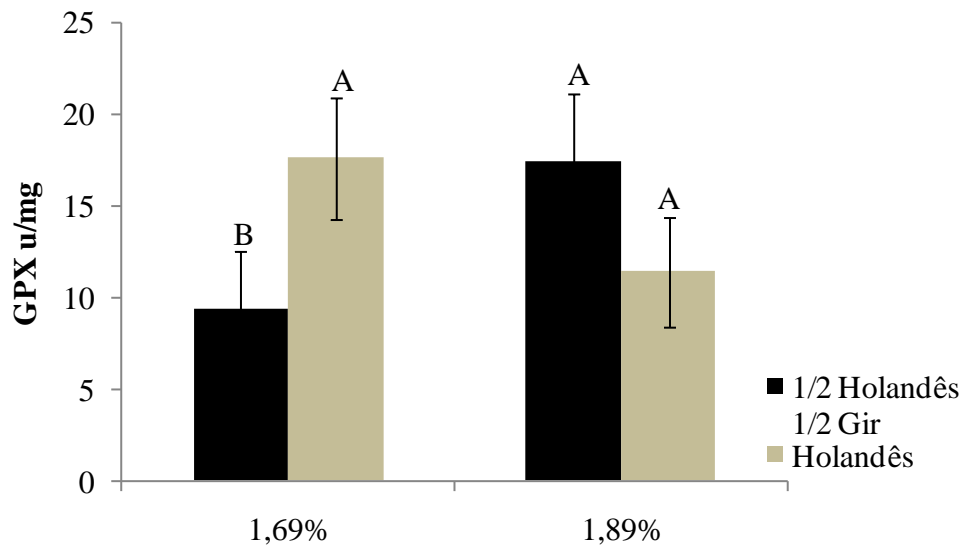
**Figura 4.** Valores de creatinina no plasma (mmol/l) de vacas das composições raciais Girolando F1 (½ Holandês ½ Gir) e Holandês (A) e concentração de glicose plasmática de vacas dos planos nutricionais de 1,69 e 1,89% do peso corporal durante o período de transição, \* medias são significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ), + as médias apresentam tendência para diferenças ( $P < 0,10$ ).



**Figura 5.** Concentração da enzima DCFE durante o período de transição, \* medias são significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ), entre os planos nutricionais.

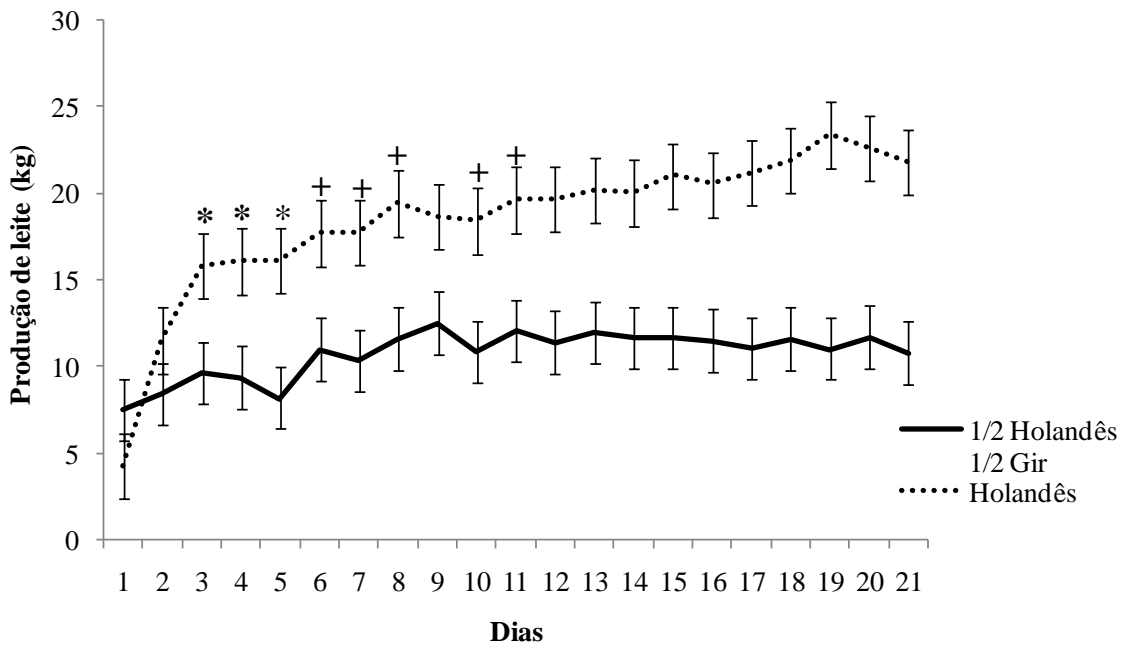


**Figura 6.** Concentração da enzima DCFP (A) e GSH (B) durante o período de transição, \* medias são significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ), + as médias apresentam tendência para diferenças ( $P < 0,10$ ).

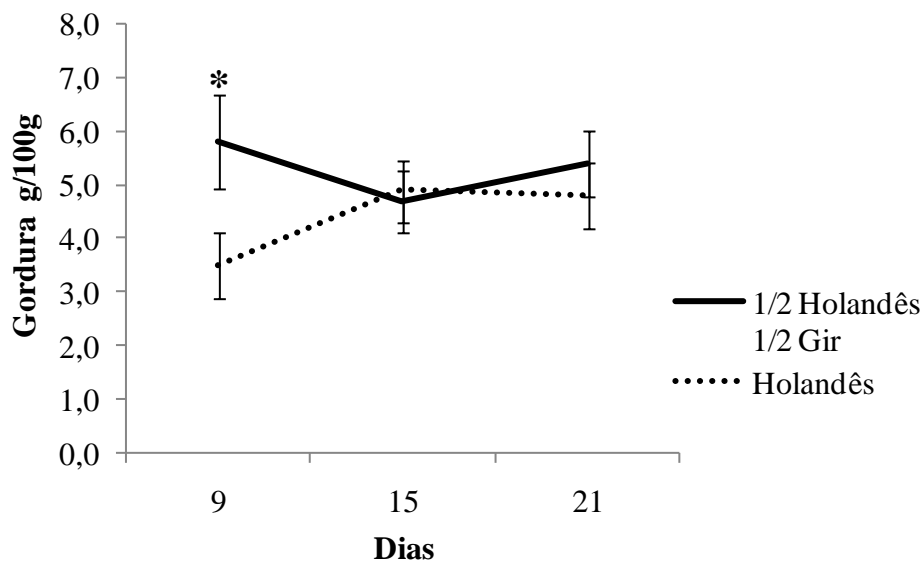


**Figura 7.** Concentração da enzima GPx durante o período de transição entre as composições raciais e planos nutricionais. Letras maiúsculas distintas indicam que as medias são significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ).





**Figura 8.** Produção de leite das composições raciais Girolando F1 (1/2 Holandês 1/2 Gir) e Holandês durante o período de transição,\* medias são significativamente diferente ( $P < 0,05$ ), + médias apresentam tendência para diferenças ( $P < 0,10$ ).



**Figura 9.** Concentração de gordura no leite de vacas das composições raciais Girolando F1(1/2 Holandês 1/2 Gir) e Holandês durante o período de transição,\* médias são significativamente diferente ( $P < 0,05$ ), + médias apresentam tendência para diferenças ( $P < 0,10$ ).

## **CAPÍTULO IV**

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O consumo durante o período de transição parece estar relacionado a uma série de fatores, como níveis de energia na dieta, escore de condição corporal e o estado imunológico do animal. Todos estes fatores causam alterações no sistema metabólico e fisiológico do animal, relacionado-se diretamente com a retomada do consumo no pós parto.

Atributos de metabólitos sanguíneos, estresse oxidativo, hemogramas e escore de condição corporal utilizados nesse estudo caracterizaram o metabolismo de vacas leiteiras durante o período de transição e sua relação com as variações de consumo. Apesar de não termos medidos proteínas de fase de aguda como citocinas e haptoglobinas, o que nos caracterizaria o nível de inflamação mais pontual, o fator imunológico foi estimado com atributos do estresse oxidativo nos dois estudos e hemogramas no primeiro estudo.

No primeiro estudo os fatores relacionados ao estado imunológico demonstraram que as vacas recebendo extratos de plantas apresentavam um baixo nível de imunossupressão durante o período de transição devido ao desafio moderado imposto pela produção de leite (18 kg PLCG ou PLCE), o que provavelmente limitou a possibilidade de encontrarmos diferenças estatísticas quanto à melhoria do sistema imune e resultados mais pronunciados dos extratos de plantas no sistema imunológico. Ainda assim nossos resultados mostram que os extratos de orégano e chá verde possuem capacidade de reduzir o estresse oxidativo durante o período pós parto, podendo acarretar em melhorias para o sistema imunológico. O extrato de orégano apresentou resultados mais promissores ao melhorar a eficiência no uso de nutrientes e a conversão alimentar e reduzir a contagem de células somáticas.

No segundo estudo com dois níveis de oferta de dieta durante os 21 dias pré parto os escores de condição corporal excessivos (acima de 3,5) e os elevados níveis de AGNE desde o início do período transição, influenciaram negativamente o sistema imunológico dos animais nas duas ofertas alimentares, o que pode ser confirmado pelo aumento de atributos do estresse oxidativo. A oferta 1,69%PC apresentou maior capacidade de redução do estresse oxidativo. Novilhas recebendo a oferta 1,89% PC demonstraram tendência para redução no consumo de MS no pré parto, entretanto ocorreu aumento do cálcio e de AGNE. Houve tendência para o aumento do consumo de EM pós parto assim como a melhor conversão alimentar e aumento da glicose. Diferenças metabólicas e fisiológicas entre os grupos genéticos acarretaram em diferenças no consumo e estresse oxidativo. Vacas da raça Holandês apresentaram o maior consumo no pré e pós parto e maior produção de leite. Evidências demonstram em nosso trabalho que o manejo alimentar de vacas Girolando F1 durante o período de transição deve ser diferente do manejo de vacas Holandês.

## REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE GIROLANDO. **Regulamento do Serviço de Registro Genealógico da Raça Girolando**. Uberaba: FAZU, 2014. 61 p.

ABUELO, A. et al. Effect of colostrum redox balance on the oxidative status of calves during the first 3 months of life and the relationship with passive immune acquisition. **The Veterinary Journal**, London, v. 199, n. 2, p. 295–299, 2014.

AHMED, S. T. et al. Effects of supplementation with green tea by-products on growth performance, meat quality, blood metabolites and immune cell proliferation in goats. **J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.**, Berlin, v. 99, n. 6, p. 1127–1137, 2015.

ALLEN, M.S.; BRADFORD, B.J. ; OBA, M. Board-invited review: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. **J. Anim. Sci.**, Champaign, v. 87, n. 10, p. 3317–3334, 2009.

AMETAJ, B. N. et al. Acute phase response indicates inflammatory conditions may play a role in the pathogenesis of fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, Suppl. 1, p. 189, 2002.

AMETAJ, B. N. et al. Strong relationships between mediators of the acute phase response and fatty liver in dairy cows. **Can.J. Anim. Sci.,Manitoba**, Ottawa, v. 85, n. 2, p. 165–175, 2005.

ARAUJO, R. C. **Óleos essenciais de plantas brasileiras como manipuladores da fermentação ruminal in vitro**. 2010. 178 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

BANNERMAN, D. D. et al. Effects of intramammary infusion of *cis*-urocanic acid on mastitis-associated inflammation and tissue injury in dairy cows. **Am. J.Vet. Res.**, Chicago, v. 70, n. 3, p. 373–382, 2009.

BENCHAAR, C.; GREATHEAD, H. Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 166–167, p. 338-355, 2011.

BERNABUCCI, U. et al. Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 9, p. 2173–2179, 2002.

BERGLUND, B.; PHILIPSSON, J.; DANELL, Ö. External signs of preparation for calving and course of parturition in Swedish dairy cattle breeds. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 15, n. 1–2, p. 61-79, 1987.

BERTONI, G. et al. Effects of inflammatory conditions on liver activity in puerperium period and consequences for performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 9, p. 3300–3310, 2008.

BLOCK, E. Transition cow research – What makes sense today? IN: **High Plains Dairy Conference, 75., 2010**, Amarillo, Texas [ Anais.....] Amarillo: **High Plains Dairy Conference**, 2010. p.75 -98.

BLOCK, S. S. et al. Demonstration of a role for insulin in the regulation of leptin in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 11, p. 3508-3515, 2003.

BORCHERS, R. Proteolytic activity of rumen fluid *in vitro*. **J. Animal Sci.**, Champaign, v. 24, n. 4, p. 1033-1038, 1965

BORGES, A. L. C. C. et al. Desempenho nutricional de bovinos leiteiros. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 36, p. 88-99, 2015.

BOURA-HALFON, S.; YEHIEL, Z. Phosphorylation of IRS proteins, insulin action, and insulin resistance. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, Bethesda, v. 296, n. 4, p. E581–E591, 2009.

BRADFORD, B. J. et al. Invited review: Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 98, n. 10, p. 6631–6650, 2015.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

BUTLER, M. et al. Evaluation of a high-fibre total mixed ration as a dry cow feeding strategy for spring-calving Holstein Friesian dairy cows. **Livestock Animal Science**, Amsterdam, v. 136, n. 2-3, p. 85–92, 2011.

CARSON, C. F.; MEE, B. J.; RILEY, T. V. Mechanism of action of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 46, n. 6, p. 1914-1920, 2002.

CECILIANI, F. et al. Acute phase proteins in ruminants. **J. Proteomics**, Amsterdam, v. 75, n. 14, p. 4207–4231, 2012.

CELI, P.; DI, T. A.; QUARANTA, A. Metabolic profile and oxidative status in goats during the peripartum period. **Animal Production Science**, Australia, v. 48, n. 7, p. 1004–1008, 2008.

CELI, P.; CLAPS, S. Effects of plane of nutrition on oxidative stress in goats during the peripartum period. **The Veterinary Journal**, London, v. 184, n. 1, p. 95–99, 2010.

CHEN, L. et al. Absorption, distribution, elimination of tea polyphenols in rats. **Drug Metab Dispos.**, Bethesda, v. 25, n. 9, p. 1045-50, 1997.

CHEN, J. H. et al. Green tea polyphenols prevent toxin-induced hepatotoxicity in mice by down-regulating inducible nitric oxide-derived prooxidants. **Am. J.Clin Nutr.**, Bethesda, v. 80, n. 3, p. 742–51, 2004.

CHO, B.W. et al. Therapeutic effect of oregano essential oil on subclinical bovine mastiti caused by *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **J. Vet Res**, Korean, v. 55, n. 4, p. 253-257, 2015

COLITTI, M.; STEFANON B. Effect of natural antioxidants on superoxide dismutase and glutathione peroxidase mRNA expression in leukocytes from periparturient dairy cows. **Vet Res Commun.**, Dordrecht, v. 30, n. 1, p. 19-27, 2006.

CONTRERAS, G. et al. Adipose tissue remodeling in late-lactation dairy cows during feed restriction-induced negative energy balance. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 99, n. 12, p. 10009–10021, 2016.

CONTRERAS, G. A.; BARBOZA, C. S.; RAPHAEL, W. Adipose tissue lipolysis and remodeling during the transition period of dairy cows. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, London, v. 8, p. 41, 2017.

CORRÊA, M.N. et al. **Transtornos metabólicos nos animais domésticos**. Pelotas: ed. Universitária, 2010. 520 p.

COLITTI, M.; STEFANON, B. Effect of natural antioxidants on superoxide dismutase and glutathione peroxidase mRNA expression in leukocytes from periparturient dairy cows. **Veterinary Research Communications**, Dordrecht, v. 30, n. 1, p. 19–27, 2006.

CRANE, A.; NELSON, W.O.; BROWN, R. E. Effects of D-limonene and  $\alpha$ -D pinene on *in vitro* carbohydrate dissimilation and methane formation by rumen bacteria. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 40, n. 10, p. 1317-1323, 1957.

CROOKENDEN, M. A. C. G. et al. Effects of precalving body condition and prepartum feeding level on gene expression in circulating neutrophils. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 100, n. 3, p. 2310–2322, 2017.

DANN, H. M. et al. Diets during far-off and close-up dry periods affect periparturient metabolism and lactation in multiparous cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 9, p. 3563–3577, 2006.

DANTZER, R.; KELLEY, K. W. Twenty years of research on cytokine- induced sickness behavior. **Immun Brain Behav**, Amsterdam, v. 21, n. 2, p. 153–160, 2007.

DEPKE, M. et al. Altered hepatic mRNA expression of immune response and apoptosis-associated genes after acute and chronic psychological stress in mice. **Mol. Immunol**, Oxford, v. 46, n. 15, p. 3018–3028, 2009.

DONG, G. et al. Diet-induced bacterial immunogens in the gastrointestinal tract of dairy cows: Impacts on immunity and metabolism. **Acta Veterinaria**, London, v. 53, p. 48, 2011.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **J. Appl Microbiol**, Oxford, v. 88, n. 2, p. 308–316, 2000.

DOUGLAS, G. N. et al. Peripartal metabolism and production of Holstein cows fed diets supplemented with fat during the dry period. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 12, p. 4210–4220, 2004.

DOUGLAS, G. N. et al. Prepartal plane of nutrition, regardless of dietary energy source, affects periparturient metabolism and dry matter intake in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 6, p. 2141–2157, 2006.

DRACKLEY, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 82, n. 11, p. 2259–7, 1999.

DRACKLEY, J. K. et al. Visceral adipose tissue mass in nonlactating dairy cows fed diets differing in energy density. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 6, p. 3420-3430, 2014.

DRACKLEY, J. K.; CARDOSO, F. C. Prepartum and postpartum nutritional management to optimize fertility in high-yielding dairy cows in confined TMR systems. **Animal**, Cambridge, v. 8, n. s1, p. 5-14, 2014.

DRONG, C. et al. Effects of monensin and essential oils on immunological, haematological and biochemical parameters of cows during the transition



period. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 101, n. 4, p. 791-806, 2016.

DU, X. et al. Acetoacetate induces hepatocytes apoptosis by the ROS-mediated MAPKs pathway in ketotic cows. **J. Cell Physiol.**, New York, v. 232, n. 12, p. 3296–3308, 2017.

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

FARNEY, J. K. et al. Anti-inflammatory salicylate treatment alters the metabolic adaptations to lactation in dairy cattle. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v. 305, n. 2, p. R110–R117, 2013.

FORD JUNIOR, J. A.; PARK, C. S. Nutritionally directed compensatory growth enhances heifer development and lactation potential. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. 7, p. 1669-1678, 2001.

GABAI, G. et al. Oxidative stress in primiparous cows in relation to dietary starch and the progress of lactation. **Animal Science**, France, v. 79, n. 1, p. 99-108 2004.

GALVÃO, K. N. et al. Association between uterine disease and indicators of neutrophil and systemic energy status in lactating Holstein cows. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 93, n. 7, p. 2926–2937, 2010.

GARNSWORTHY, P.; TOPPS, J. The effect of body condition of dairy cows at calving on their food intake and performance when given complete diets. **Animal Science**, France, v. 35, n. 1, p. 113-119, 1982.

GRAUGNARD, D. E. et al. Blood immunometabolic indices and polymorphonuclear neutrophil function in peripartum dairy cows are altered by level of dietary energy prepartum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 4, p. 1749-1758, 2012.

GERLOFF, D. V. M.; BRIAN, J. Dry Cow Management for the Prevention of Ketosis and Fatty Liver in Dairy Cows. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 16, n. 2, p. 283-292, 2000.

GESSNER, D. K.; RINGSEIS, R.; EDER, K. Potential of plant polyphenols to combat oxidative stress and inflammatory processes in farm animals. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 101, n. 4, p. 605–628, 2017.

GITTO, E. et al. Causes of oxidative stress in the pre- and perinatal period. **Biol. Neonate**, Basel, v. 81, n. 3, p. 146–157, 2002.

GIUSEPPE, B.; TREVISI, E.; LOMBARDELLI, R. Some new aspects of nutrition, health conditions and fertility of intensively reared dairy cow. **Italian Journal of Animal Science**, Bologna, v. 8, n. 4, p. 491-518, 2009.

GLADINE, C. et al. Bioavailability and antioxidant capacity of plant extracts rich in polyphenols, given as a single acute dose, in sheep made highly susceptible to lipoperoxidation. **British Journal of Nutrition**, Wallingford, v. 98, n. 4, p. 691-701, 2007

GREGOR, M. F.; HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammatory mechanisms in obesity. **Annu. Rev. Immunol.**, Palo Alto, v. 29, p. 415–445, 2011.

GRIFFIN, S. G. et al. The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. **Flavour and Fragrance J.**, Oxford, v. 14, n. 5, p. 322-332, 1999.

GRUBER, L. et al. Influence of energy and nutrient supply pre and post partum on performance of multiparous Simmental, Brown Swiss and Holstein cows in early lactation. **Animal**, Cambridge, v. 8, n. 1, p. 58–71, 2014.

GRUMMER, R. R. Etiology of lipid related metabolic disorders in periparturient dairy cattle. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 12, p. 3882-3896, 1993.

GRUMMER, R. R. Impact in changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition cow. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 9, p. 2820–2833, 1995.

GUO, C. et al. Oxidative stress, mitochondrial damage and neurodegenerative diseases. **Neural Regen Res.**, Mumbai, v. 8, n. 21, p. 2003–2014, 2013.

HAMPTON, M. G. Production of black tea. In: WILLSON, K. C.; CLIFFORD, M. N. (Ed.). **Tea: Cultivation to Consumption**. London: Chapman & Hall, 1992. p. 459-511.

HASHEMZADEH-CIGARI, F. et al. Supplementation of herbal plants differently modulated metabolic profile, insulin sensitivity, and oxidative stress in transition dairy cows fed various extruded oil seeds. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 18, n. 1, p. 45-55, 2014.

HAYIRLI, A. Animal and dietary factors affecting feed intake during the prefresh transition period in Holsteins. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 12, p. 3430–3443, 2002.

HAYIRLI, A. The role of exogenous insulin in the complex of hepatic lipidosis and ketosis associated with insulin resistance phenomenon in postpartum dairy cattle, **Vet. Res. Commun.**, Dordrecht, v. 30, n. 7, p. 749-774, 2006.

HAYIRLI,A.; KEISLER D.H.; DOEPE, L. Peripartum responses of dairy cows to prepartal feeding level and dietary fatty acid source. **J. Dairy Science**,Champaign,v. 94, n. 2,p. 917–930, 2011.

HELANDER, I. M. et al. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. **J. of Agric. and Food, Chemistry**, v. 46, n. 9, p. 3590–3595, 1998.

HOLCOMB, C. S. et al. Effects of prepartum dry matter intake and forage percentage on postpartum performance of lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. 9, p. 2051-2058, 2001.

HOLTENIUS, K. et al. Effects of feeding intensity during the dry period. Metabolic and hormonal responses. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 3, p. 883–891, 2003.

HOLZER, P. Transient receptor potential (TRP) channels as drug targets for diseases of the digestive system. **Pharmacology and Therapeutics**,Oxford, v. 131, n. 1, p. 142–170, 2011.

HRISTOV, A. N. et al. A meta-analysis of variability in continuous-culture ruminal fermentation and digestibility data. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 95, n. 9, p. 5299–5307, 2012a.

INGVARTSEN, K. L.; ANDERSEN, J. B. Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 7, p.1573–97, 2000.

JANOVICK, N. A. et al. Prepartum dietary energy intake affects metabolism and health during the periparturient period in primiparous and multiparous Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaing, v. 94, n. 3, p.1385–1400, 2011.

JANOVICK, N. A.; DRACKLEY, J. K. Prepartum dietary management of energy intake affects postpartum intake and lactation performance by primiparous and multiparous Holstein cows. **J. Dairy Sci.**, Champaing, v. 93, p. 3086–3102, 2010.

JIN W. K. Modulation of the Somatotropic Axis in Periparturient Dairy Cows Asian Australas. **J. Anim. Sci.**, Champaign, v. 27, n. 1, p. 147-154, 2014.

KHAN, T. et al. Metabolic dysregulation and adipose tissue fibrosis: role of collagen VI. **Mol. Cell. Biol**, Washington, v. 29, n. 6, p. 1575–91, 2009.

KUSHIBIKI, S. et al. Administration of recombinant bovine tumor necrosis factor-alpha affects intermediary metabolism and insulin and growth hormone secretion in dairy heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, n. 8, p. 2164–2171, 2000.

KVIDERA, S. K. et al. Glucose requirements of an activated immune system in lactating Holstein cows. **J. Dairy Sci**, Champaign, v. 100, n. 3, p. 2360–2374, 2017.

LAGE, E. F. **Partição da energia e exigências nutricionais no terço final da gestação e avaliação do perfil metabólico durante o período de transição de vacas gir e f1 holandês x gir**. 2015, 123 f. Tese (Doutorado em zootecnia, nutrição animal) - Programa de pós graduação em zootecnia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

LAGUNA, J. G. et al. Expression of hepatic genes related to energy metabolism during the transition period of Holstein and F1 Holstein-Gir cows. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 100, n. 12, p. 9861–9870, 2017.

LAMBERT, R. J. W. et al. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 91, n. 3, p. 453–462, 2001.

LANGE, J. et al. Prepartum feeding level and body condition score affect immunological performance in grazing dairy cows during the transition period. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 99, n. 3, p. 2329–2338, 2016.

LEJONKLEV, J. et al. Transfer of terpenes from essential oils into cow's milk. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 96, n. 7, p. 4235–4241, 2013.

LEJONKLEV, J. et al. Effect of oregano and caraway essential oils on the production and flavor of cow milk. **Journal of dairy science**, Champaign, v. 99, n. 10, p. 7898-7903, 2016.

LEROY, J. L. M. R. et al. Nutrient Prioritization in Dairy Cows Early Postpartum: Mismatch Between Metabolism and Fertility? **Reproduction in domestic animal**, Berlin, v. 43, n. 2, p. 96–103, 2008.

LIU, J. et al. Association of green tea consumption with mortality from all-cause, cardiovascular diseases and cancer in a Chinese cohort of 165,000 adult men. **Eur. J. Epidemiol.**, Dordrecht, v. 31, n. 9, p. 853-865, 2016.

LUCY, M. C.; JIANG, H.; KOBAYASHI, Y. Changes in the somatotrophic axis associated with the initiation of lactation. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 84, Supl., p. E113–E119, 2001.

MALECKY, M.; BROUDISCOUR, L. P.; SCHMIDELY, P. Effects of two levels of monoterpene blend in rumen fermentation, terpene and nutrient flows in the duodenum and milk production in dairy goats. **Anim Feed Sci Technol.**, Amsterdam, v. 154, n. 1-2, p. 24–35, 2009.

MC.CARTHY, M. M. et al. Associations between the degree of early lactation inflammation and performance, metabolism, and immune function in dairy cows. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 99, n. 1, p. 680-700, 2016.

MICHIELS, J. et al. Effects of dose and formulation of carvacrol and thymol on bacteria and some functional traits of the gut in piglets after weaning. **Arch. Ani. Nutr.**, Abingdon, v. 64, n. 2, p. 136-154, 2010.

MIER-CABRERA, J. et al. Quantitative and qualitative peritoneal immune profiles T-cell apoptosis and oxidative stress-associated characteristics in women with minimal and mild endometriosis. **BJOG Int J Obstet Gynaecol.**, Oxford, v. 118, n. 1, p. 6–16, 2011.

MITTAL, M. et al. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. **Antioxidants & Redox Signalling**, Larchmont, v. 20, n. 7, p. 1126–1167, 2014.

MONTAGNER, P. et al. Relationship between pre-partum body conditionscore changes, acute phase proteins and energy metabolism markers during the peripartum period in dairy cows. **Italian journal of animal science**, Bologna, v. 16, n. 2, p. 329-336, 2017.

NAKAE, J.; KIDO, Y.; ACCILI, D. Distinct and overlapping functions of insulin and IGF-I receptors. **Journal Endocrinology**, New York, v. 22, n. 6, p. 818–835, 2001.

NEVIUS, E.; SRIVASTAVA, P. K.; BASU, S. Oral ingestion of capsaicin, the pungent component of chili pepper, enhances a discreet population of macrophages and confers protection from autoimmune diabetes. **Mucosal Immunology**, New York, v. 5, n. 1, p. 76–86, 2012.

NEWTON, K.; DIXIT, V. M. Signaling in innate immunity and inflammation. **Cold Spring Harb, Perspect. Biol**, Woodbury, v. 4, n. 3, a006049, 2012.

OH, J. E. et al. Host-mediated effects of phytonutrients in ruminants: A review. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 100, n. 7, p. 1–10, 2017.

OVERTON, T. R.; WALDRON, M. R. Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, suppl., p. E105–E119, 2004.

PALIT, S. et al. Hesperetin Induces Apoptosis in Breast Carcinoma by Triggering Accumulation of ROS and Activation of ASK1/JNK Pathway. **J.Cell Physiol.,Burlington**, New York,v. 230, n. 8, p. 1729-39, 2015.

PARASKEVAKIS, N. et al. Effects of dietary dried Greek Oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) supplementation on blood and milk enzymatic antioxidant indices, on milk total antioxidant capacity and on productivity in goats. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 209, p. 90-97, 2015.

PEREIRA, J. C. C. **Melhoramento genético aplicado à produção animal**. 2. ed. Belo Horizonte: Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1999. v. 1. 496 p.

QU, Y. et al. Potential risk indicators of retained placenta and other diseases in multiparous cows. **J. Dairy Sci**, Champaign, v. 97, n. 7, p. 4151–4165, 2014.

RIZZO, A. et al. First demonstration of an increased serum level of reactive oxygen species during the peripartal period in the ewes. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, London, v. 30, n. 4, p. 741–746, 2008.

RHOADS, R. P. et al. Insulin increases the abundance of the growth hormone receptor in liver and adipose tissue of periparturient dairy cows. **The Journal of Nutrition**, Rockville, v.134, n. 5, p.1020–1027, 2004.

ROCHE, J.R.; KOLVER, E. S.; KAY, J. K. Influence of precalving feed allowance on periparturient metabolic and hormonal responses and milk production in grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaing, v.88, n. 2, p. 677–689, 2005.

ROCHE, J. R. Milk production responses to pre- and postcalving dry matter intake in grazing dairy cows. **Livestock Science**, v. 110, n. 1-2, p.12–24, 2007.

ROCHE, J. R. et al. Nutritional management of the transition cow in the 21st century – a paradigm shift in thinking. **Animal Production Science**, Melbourne, v. 53, n. 9, p. 1000–1023, 2013.

ROCHE, J. R. et al.Strategies to gain body condition score in pasture-based dairy cows during late lactation and the far-off nonlactating period and their interaction with close-up dry matter intake. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.100, n. 3, p.1-19, 2017.

SALMAZO, R. et al. Efeito de diferentes níveis de concentrado no período pré e pós-parto sobre a produção de leite e escore corporal de vacas leiteiras. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 3, p. 1219-1228, 2012.

SANTOS, F. S. et al. Intake, digestibility and milk production and composition of dairy cows fed different levels of Yerba Mate in the diet. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 230, p. 70 -76, 2017.

SANTOS, J. E. P. et al. Novas Estratégias no Manejo e Alimentação de Vacas Pré-Parto. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 10., 1998, Piracicaba. [Anais...] Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 1998. p. 165-214.

SCALIA, D. et al. In vitro effects of nonesterified fatty acids on bovine neutrophils oxidative burst and viability. **J Dairy Sci.**, Champaign, v. 89, n. 1, p.147–54, 2006.

SCHÉONFELD, P.; WOJTCZAK, L. Fatty acids as modulators of the cellular production of reactive oxygen species. **Free Radical Biology and Medicine**, Tarrytown, v. 45, n. 3, p. 231–241, 2008.

SHARMA, N. et al. Oxidative Stress and Antioxidant Status during Transition Period in Dairy Cows. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.**, Seoul, v. 24, n. 4, p. 479 – 484, 2011.

SHI, X. et al. B-hydroxybutyrate activates the NF-κB signaling pathway to promote the expression of pro-inflammatory factors in calf hepatocytes. **Cellular Physiology and Biochemistry**, Basel, v. 33, n. 4, p. 920–932, 2014.

SHI, X. et al. NEFAs activate the oxidative stress-mediated NF-κB signaling pathway to induce inflammatory response in calf hepatocytes. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 145, p. 103–112, 2015.

SILVA, T. R. G. **Inclusão de óleos essenciais na dieta de suínos**. 2010. 49 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Programa de pós graduação e zootecnia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.

SILVA, M. V. G. B. et al. **Programa de Melhoramento Genético da Raça Girolando – Sumário de Touros – Resultado do Teste de Progênie - Julho/2017**. Juiz de Fora : Embrapa Gado de Leite, 2017. 56 p. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 203).

SORDILLO, L. M.; AITKEN, S.L. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 128, n. 1-3, p. 104–109, 2009.

SORDILLO, L. M., RAPHAEL, W. et al. Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders. **The Veterinary**

**Clinics of North America, Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 29, n. 2, p. 267–278, 2013.

SORDILLO, L. M.; MAVANGIRA, V. The nexus between nutrient metabolism, oxidative stress and inflammation in transition cows. **Animal Production Science**, Melbourne, v. 54, n. 9, p. 1204–1214, 2014.

STEFANON, B.; SGORLON, S.; GABAI, G. Usefulness of Nutraceuticals in Controlling Oxidative Stress in Dairy Cows Around Parturition. **Veterinary Research Communications**, Dordrecht, v. 29, suppl. 2, p. 387–390, 2005.

TANAKA, T.; KOUNO, I. Oxidation of Tea Catechins: Chemical Structures and Reaction Mechanism. **Food Sci. Technol. Res.**, v. 9, n. 2, p. 128–133, 2003.

TAO, S. et al. Short communication: Effect of heat stress during the dry period on gene expression in mammary tissue and peripheral blood mononuclear cells. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 96, n. 1, p. 378–383, 2013.

TEKIPPE, J. A. et al. Rumen fermentation and production effects of *Origanum vulgare* L. leaves in lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 94, n. 10, p. 5065–5079, 2011.

THANGARAJON, S. et al. Neuroprotective activity of l-theanine on 3 nitropropionic acid-induced neurotoxicity in rat striatum, **J. Neurosci**, London, v. 124, n. 9, p. 673-684, 2014.

THOMPSON, J. R. et al. Evaluation of a Linearized Type Appraisal System for Holstein Cattle. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 66, n. 2, p. 325–331, 1983.

TREVISI, E. et al. Metabolic stress and inflammatory response in high-yielding, periparturient dairy cows. **Res. Vet. Sci.**, London, v. 93, n. 2, p. 695–704, 2012.

TREVISI, E. et al. Blood and milk immune and inflammatory profiles in periparturient dairy cows showing a different liver activity index. **J. Dairy Res.**, Champaign, v. 77, n. 3, p. 310–317, 2010.

TREVISI, E.; MOSCATI, L.; AMADORI, M. Chapter 9 – Disease-Predicting and Prognostic Potential of Innate Immune Responses to Noninfectious Stressors: Human and Animal Models. In: **Amadori, Massimo. The Innate Immune Response to Non-infectious Stressors, Brescia, Italy: Academic Press, 2016.** p. 276–261.

TREVISI, E. et al. Pro-inflammatory cytokine profile in dairy cows: Consequences for new lactation. **Italian Journal of Animal Science**, Bologna, v. 14, n. 3, p. 285-292, 2015.



TREVISAN, M. et al. Correlates of markers of oxidative status in the general population. **Am. J. Epidemiol**, Baltimore, v. 154, n. 4, p. 348–356, 2001.

TOTHOVA, C.; NAGY, O.; KOVAC, G. Acute phase proteins and their use in the diagnosis of diseases in ruminants: a review. **Veterinarni Medicina**, Praha, v. 59, p. 163–180, 2014.

ULTEE, A.; KETS, E. P.; SMID, E. J. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. **Appl Environ Microbiol.**, Washington, v. 65, n. 10, p. 4606–4610, 1999.

VAILATI-RIBONI, M. et al. Body condition score and plane of nutrition prepartum affect adipose tissue transcriptome regulators of metabolism and inflammation in grazing dairy cows during the transition period. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 99, n. 1, p. 758–770, 2016.

VAILATI-RIBONI, M. et al. Far-off and close-up dry matter intake modulate indicators of immunometabolic adaptations to lactation in subcutaneous adipose tissue of pasture-based transition dairy cows. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 100, n. 3, p. 2334-2350, 2017.

VICKERS, L. A. et al. Feeding a higher forage diet prepartum decreases incidences of subclinical ketosis in transition dairy cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 91, n. 2, p. 886–894, 2012.

WATERS, S. M. et al. Associations between newly discovered polymorphisms in the *Bos taurus* growth hormone receptor gene and performance traits in Holstein-Friesian dairy cattle. **Anim. Genet.**, Oxford, v. 42, n. 1, p. 39-49, 2011.

WEISDORF, D. J.; CRADDOCK, P. R.; JACOB, H. S. Granulocytes utilize different energy sources for movement and phagocytosis. **Inflammation**, New York, v. 6, n. 3, p. 245–256, 1982.

WEIN, S. et al. Systemic Absorption of Catechins after Intraruminal or Intraduodenal Application of a Green Tea Extract in Cows. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 11, n. 7, p.e0159428, 2016.

WINKLER, A. et al. Effects of a plant product consisting of green tea and curcuma extract on milk production and the expression of hepatic genes involved in endoplasmic stress response and inflammation in dairy cows. **Archives of Animal Nutrition**, Berlin, v. 69, n. 6, p. 425–441, 2015

YUAN, G. J. et al. Epigallocatechin-3-gallate ameliorates alcohol induced liver injury in rats. **Int J Mol Sci.**, Switzerland, v. 7, n. 7, p. 204–219, 2006.

ZACHUT, M. et al. Periparturient dairy cows do not exhibit hepatic insulin resistance, yet adipose-specific insulin resistance occurs in cows prone to high weight loss. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 96, n. 9, p. 5656–5669, 2013.

ZEBELI, Q.; AMETAJ, N. Relationships between rumen lipopolysaccharide and mediators of inflammatory response with milk fat production and efficiency in dairy cows. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 8, p. 3800-3809, 2009.

ZHANG, F. J. et al. Effects of temperature-humidity index and chromium supplementation on antioxidant capacity, heat shock protein 72, and cytokine responses of lactating cows. **J. Anim. Sci.**, Champaign, v. 92, n. 7, p. 3026–3034, 2014.

ZHANG, G. et al. Dairy cows affected by ketosis show alterations in innate immunity and lipid and carbohydrate metabolism during the dry off period and postpartum. **Research in Veterinary Science**, London, v. 107, p. 246–256, 2016.

ZHONG, Z. et al. Effects of supplementation with dietary green tea polyphenols on parasite resistance and acute phase protein response to *Haemonchus contortus* infection in lambs. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 205, n. 1–2, p. 199-207, 2014.

## APÊNDICES



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

### **Journal Policies and Procedures**

The American Dairy Science Association® (ADSA®) 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. Matthew C. Lucy; phone: (573) 882-9897; e-mail: [lucvm@missouri.edu](mailto:lucvm@missouri.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; [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. The Resources and Environment section may include papers from either Dairy Foods or Dairy Production.

### **Dairy Foods Sections**

- Bioactivity and Human Health
- Chemistry and Materials Science
- Microbiology and Safety
- Processing and Engineering
- Resources and Environment
- Sensory Analysis

### **Dairy Production Sections**

- Animal Nutrition
- Breeding, Genetics, and Genomics
- Health, Behavior, and Well-being
- Management and Economics
- Physiology
- Resources and Environment

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. 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 of experiments published in the journal 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:

<sup>1</sup>Revised January 2016.

**Hot Topics.** Papers submitted for this section must report on a completed experiment testing a timely, original hypothesis of importance to an area of dairy science. The work may be preliminary in nature, but with sufficient data so that the hypothesis is clearly tested. Results may point to avenues for fruitful, in-depth analyses. Reports must contain an explicitly stated hypothesis and objectives, with sufficient detail in methodology for repetition of the work, as well as results, a brief discussion, and references. Total page limits for text, tables, figures, and references must be no more than 5 journal pages (approximately 10 manuscript pages minus space for tables and figures). Hot topics should not contain main headings or subheadings. The total number of tables and figures should be no more than 3; references should be minimal.

Hot topics papers will be given priority for publication. An effort will be made to notify authors of a decision within 1 mo of the date of receipt. Once accepted, the paper should be published within 3 mo.

**Short Communications.** Short communications are reports of limited experiments that test a timely, original hypothesis of importance to some area of dairy science. The manuscript should be no more than 5 journal pages in length and the total number of tables and figures should be no more than 3 (approximately 10 manuscript pages minus space for tables and figures); "Short communication:" should precede the title on the title page of the manuscript. Short communications should not contain main headings or subheadings. The manuscript may report negative results. Reports must contain a hypothesis, objectives, sufficient detail in methodology for repetition of the work, results with brief discussion, and references.

**Technical Notes.** Papers in this section should report a method that is useful to some aspect of dairy science. Submissions should include a brief justification for the technique, be it new or an improvement on a previously published technique. The report should state a hypothesis, include a full description of procedures that can be repeated by researchers, and include explicit controls to indicate sensitivity, precision, and accuracy of the technique. Technical notes should not contain main headings or subheadings.

If the technique is an improvement on an existing technique, sufficient comparison of the previous technique should be included, and mean and dispersion information must be included. The page limit is 5 journal pages (approximately 10 manuscript pages minus space for tables and figures). Use of tables, figures, and references should be minimized. Requests for longer technical notes may be made to the senior editor and

editor-in-chief, but justification for a longer report will be required.

**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, Filippo Miglior ([miglior@cdn.ca](mailto:miglior@cdn.ca)) with justification for the review. The invited reviews editor is responsible for inviting submission of review papers and overseeing the peer-review process. The first 10 printed pages of an invited review are published at no cost to the author.

**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. The letters should be titled and the title and running head should include "Letter to the editor." 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

### Writing Style

Papers must be written in English. The text and all supporting materials must use American 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 in the Results, Discussion, and Conclusions sections. For example, "we observed a difference..." "we concluded that ..." or "Treatment A affected dry matter intake ..." rather than "There was a difference ..." "It was concluded that ..." or "Dry matter intake was affected by treatment A ..."

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/)).



‡Department of Animal Science, Utah State University, Logan 84321

**Abstract.** Abstracts should be limited to 2,500 key-strokes (i.e., characters plus spaces). The abstract should review important objectives, materials, results, conclusions, and applications as concisely as possible. The abstract disseminates scientific information through abstracting journals and is a convenience for readers. Open the abstract with objectives and make the abstract intelligible without reference to the manuscript. Use complete sentences and standard terms. Limit the use of abbreviations in the Abstract. Refer to the list on the inside front cover of JDS or Appendices 1 and 2 of this document for those terms that should be defined in the abstract. If a term is used fewer than 3 times in the abstract, it should be spelled out at each use.

Minimize the amount of data in the abstract and exclude statements of statistical probability (e.g.,  $P < 0.05$ ). Exclude references to other work because the abstracts will appear online and in indexing services without the accompanying reference list.

**Key Words.** After the abstract, list 2 to 5 key words or phrases; they should be typed in lowercase letters and separated by commas. Key words should be singular (e.g., "dairy cow" not "dairy cows").

#### 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 10 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. The introduction should be no longer than 4,000 characters (words and spaces).

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 section. The conclusions section (optional) should consist of one brief paragraph summarizing

only the main findings of 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 supplementary material, explanations, and elaborations that are not essential to other major sections but are helpful to the reader. Novel computer programs or mathematical computations would be appropriate. The appendix will not be a repository for raw data.

#### References

List only pertinent references. No more than 3 references 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. Citation of abstracts published more than 3 yr ago is strongly discouraged.

**Citations in Text.** In the body of the manuscript, refer to authors as follows: Smith and Jones (1992) or Smith and Jones (1990, 1992). If the sentence structure requires that the authors' names be included in parentheses, the proper format is (Smith and Jones, 1982; Jones, 1988a,b; Jones et al., 1993), with citations listed chronologically (i.e., oldest first) and then alphabetically within a year. Where there are more than 2 authors, the first author's name is followed by the abbreviation "et al." in text (but all authors should be listed in the Reference section). Work that has not been accepted for publication should be listed in the text as follows: "J. E. Jones (institution, city, and state, personal communication)." The author's own unpublished work should be listed in the text as "(J. Smith, unpublished data)." Personal communications and unpublished data (including papers under review) must not be included in the references section.

**References Section.** To be listed in the references section, papers must be published or accepted for publication. Manuscripts submitted for publication but not yet accepted can be cited as "unpublished data" in the text. In the references section, references are listed alphabetically by author(s) last name(s), and then chronologically. The year of publication follows the authors' names. As with text citations, two or more publications by the same author or set of authors in the same year should be differentiated by adding lowercase letters after the date. The dates for papers with the same first author that would be abbreviated in the text as et al., even though the second and subsequent authors differ, shall also be differentiated by letters. All authors' names must appear in the reference section. Journals should

**Table 1.** Effect of garlic oil, diallyl disulfide, allyl mercaptan, monensin, and lovastatin on a 17-h in vitro batch culture rumen microbial fermentation trial

Item	Treatment <sup>1</sup>						SEM
	Control	GAR300	DAD300	ALM300	MON	LOV	
pH	6.6	6.7	6.7	6.6	6.6	6.6	0.01
Apparent disappearance of DM, %	61.0 <sup>a</sup>	50.7 <sup>b</sup>	51.2 <sup>b</sup>	60.4 <sup>a</sup>	53.9 <sup>b</sup>	62.4 <sup>a</sup>	1.11
Fiber digestibility							
NDF, %	56.8 <sup>a</sup>	44.3 <sup>b</sup>	41.4 <sup>b</sup>	55.9 <sup>a</sup>	39.3 <sup>b</sup>	60.0 <sup>a</sup>	1.73
ADF, %	53.7 <sup>a</sup>	36.8 <sup>b</sup>	34.9 <sup>b</sup>	52.5 <sup>a</sup>	30.7 <sup>b</sup>	57.0 <sup>a</sup>	2.03
Gas, $\mu\text{mol}$	4,674.8 <sup>a</sup>	3,756.9 <sup>cd</sup>	3,359.7 <sup>d</sup>	4,388.2 <sup>ab</sup>	4,009.6 <sup>bc</sup>	4,673.1 <sup>a</sup>	123.34
CH <sub>4</sub> , $\mu\text{mol}$	417.3 <sup>a</sup>	110.1 <sup>d</sup>	131.3 <sup>d</sup>	335.9 <sup>b</sup>	241.7 <sup>c</sup>	396.3 <sup>a</sup>	21.56
Total VFA, mM	49.3 <sup>a</sup>	39.7 <sup>c</sup>	38.8 <sup>c</sup>	45.4 <sup>b</sup>	45.7 <sup>ab</sup>	48.4 <sup>ab</sup>	1.17
Individual, mol/100 mol							
Acetate	61.2 <sup>a</sup>	54.3 <sup>d</sup>	53.9 <sup>d</sup>	58.3 <sup>b</sup>	56.4 <sup>c</sup>	61.1 <sup>a</sup>	0.53
Propionate	22.6 <sup>d</sup>	25.8 <sup>c</sup>	28.3 <sup>b</sup>	22.8 <sup>d</sup>	34.2 <sup>a</sup>	22.8 <sup>d</sup>	0.78
Butyrate	12.5 <sup>c</sup>	16.5 <sup>a</sup>	14.0 <sup>bc</sup>	15.0 <sup>ab</sup>	6.6 <sup>d</sup>	12.4 <sup>c</sup>	0.60
Branched-chain VFA	2.0 <sup>a</sup>	1.7 <sup>b</sup>	1.7 <sup>b</sup>	2.0 <sup>a</sup>	1.4 <sup>c</sup>	2.0 <sup>a</sup>	0.10
C2:C3	2.7 <sup>a</sup>	2.1 <sup>b</sup>	1.9 <sup>c</sup>	2.5 <sup>a</sup>	1.6 <sup>d</sup>	2.7 <sup>a</sup>	0.07
CH <sub>4</sub> ( $\mu\text{mol}$ ):VFA ( $\mu\text{mol}$ )	0.20 <sup>a</sup>	0.05 <sup>d</sup>	0.07 <sup>cd</sup>	0.15 <sup>ab</sup>	0.10 <sup>bcd</sup>	0.17 <sup>ab</sup>	0.00
N-NH <sub>3</sub> , mg/100 mL	16.7 <sup>ab</sup>	16.6 <sup>bc</sup>	19.0 <sup>a</sup>	17.2 <sup>ab</sup>	14.4 <sup>c</sup>	16.4 <sup>bc</sup>	1.10

<sup>a-d</sup>Means within a row with different superscripts differ ( $P < 0.05$ ).

<sup>1</sup>Treatments: GAR300 = 300 mg/L *Allium sativa* (garlic oil); DAD300 = 300 mg/L diallyl disulfide; ALM300 = 300 mg/L allyl mercaptan; MON = 12.5 mg/L monensin; LOV = 5 mg/L lovastatin.

the data field to the minimum needed for meaningful comparison within the accuracy of the methods.

For each table, define author-derived abbreviations in parentheses or in numbered footnotes. 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). Probability may be indicated in a separate footnote following any informational footnotes thus: † $P < 0.10$ , \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

## Figures

To facilitate review, figures should be placed at the end of the manuscript (separated by section breaks). Each figure should be placed on a separate page, and identified by the last name of the first author and figure number. Figure captions should be typed (double spaced) on a separate page.

- **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 pub-

lication 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 only.

- **Line weight.** For line graphs, use a minimum stroke weight of 1 point for all lines. If multiple lines are to be distinguished, use solid, long-dash, short-dash, and dotted lines. 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.

- **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.** For bar charts, use different fill patterns if needed (e.g., black, white, gray, diagonal stripes). Avoid the use of multiple shades of gray, as they will not be easily distinguishable in print. Complex patterns and 3-dimensional effects reproduce poorly. Remove unnecessary backgrounds and grid-lines 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 Word, PDF, EPS, TIFF, and JPEG formats.

- **Grayscale figures.** If figures are to be reproduced in grayscale (black and white), submit in grayscale. Often color will mask contrast problems that

are apparent only when the figure is reproduced in grayscale.

- **Color figures.** If figures are to appear in color in the print journal, files must be submitted in CMYK color (not RGB).

- **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 $\times$ ) 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 the simplest 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 Charge.** The cost to publish each color figure in the print journal is \$650; a surcharge for offprints will also be assessed. At the time of submission on Manuscript Central, authors will be asked to approve color charges for figures that they wish to have published in color in the print journal. Color versions of figures can be included in the online PDF and full-text article at no charge. Note that online color figures will be available in the final published version of the article (not in the galley proof for Articles in Press version).

### 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 ex-

periments 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 ( $\bar{x}$ ,  $s^2$ ). 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 terms *significant* and *highly significant* traditionally have been reserved for  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ , respectively; however, reporting the *P*-value is preferred to the use of these terms. For example, use “... we observed a difference ( $P < 0.05$ ) between control and treated samples” rather than “...we observed a significant ( $P < 0.05$ ) difference between control and treated samples.” When available, 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. 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 that less than 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 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>). Nomenclature rules for humans, nonhuman primates, and livestock are available at <http://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 SNP included in a study should be listed with their unique RefSNP (rs) or submitted

SNP (ss) number (if rs number is not yet available) as indicated in the public domain NCBI dbSNP database (<http://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 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>) for depositing the SNP into the database and obtaining a unique ss number for the SNP. In the text of the manuscript, use the rs/ss 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. 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 for bacterial plasmids should be cited according to Novick et al. (1976) in *Bacteriological Reviews* 40:168–189.

#### **Nomenclature: Enzymes**

First mention of an enzyme within a manuscript should include the Enzyme Commission (EC) number (<http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/>).

#### **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, semi-synthetic 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 NCCLS 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 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). 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 requested to provide the quality control information during the manuscript review cycle.

### Sensory Data

Sensory data should comply with "Invited Review: Sensory Analysis of Dairy Foods," *Journal of Dairy Science* 90:4925–4937. <http://dx.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 (e.g., IgG, CD). Abbreviations may be used in heads within the paper if they have been first defined within the text. The inside front cover of every issue of the journal lists abbreviations that can be used without definition (see also Appendices 1 and 2). Abbreviations are allowed when they help the flow of the manuscript; however, excessive use of abbreviations can confuse the reader. The suitability of abbreviations will be evaluated by the reviewers and editors during the review process and by the technical editor during editing. Generally, author-derived abbreviations should be in all capital letters. 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.

Plural forms of abbreviations do not require "s." Chemical symbols and 1-letter and 3-letter abbrevia-

tions for amino acids do not need definition. Bacterial genus names are abbreviated according to the guidelines recommended in *Scientific Style and Format* (8th ed.). Units of measure, except those in the standard JDS abbreviation list, should be abbreviated according to standard SI usage and do not need to be defined. See "Appendix 2" on page 13 for a list of commonly used terms.

**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. Authors must indicate accent marks and other diacriticals on international names and institutions. German nouns shall begin with capital letters.

**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 ® 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*.

Numbers less than 1 shall be written with preceding zeros (e.g., 0.75). All numbers shall be written as digits; a comma separator must be used in numbers greater than 999 (e.g., 2,478). Measures must be in the metric (SI) system; however, US equivalents may be given in parentheses. Units of measure not associated with a numeric value should be written out rather than abbreviated (e.g., lysine content was measured in milligrams per kilogram of diet) unless used parenthetically. Measures of variation must be defined in the Abstract and in the body of the paper at first use.

**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.

Insert spaces around all signs (except slant lines) of operation (=, −, +, ×, >, or <) when these signs occur between 2 items.

Items in a series should be separated by commas: a, b, and c.

**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. Avoid describing a method as “per manufacturer’s instructions.” If the product goes out of production, the method will be lost to readers. Many products come with literature references; try to use references that can be found by other researchers to describe a method being used.

#### **Supplemental Information**

The following information is available online and updated regularly. Please refer to these pages when preparing a manuscript for submission.

**SI Units.** The following site (National Institute of Standards and Technology) provides a comprehensive guide to SI units and usage: <http://physics.nist.gov/cuu/Units/index.html>.

**Figure and Table Preparation Guidelines.** Current information on figure and table preparation can be found at <http://www.journalofdairyscience.org/>.

### **SUBMISSION OF MANUSCRIPTS**

Authors should submit their papers online at ScholarOne Manuscripts (Manuscript Central; <http://mc.manuscriptcentral.com/jds>). Authors should upload manuscripts using the fewest files possible to facilitate review. Detailed instructions for submitting electronically are provided online (<http://mc.manuscriptcentral.com/jds>). Authors who are unable to submit online should contact Shauna Miller, editorial assistant, ([shaunam@assoqh.org](mailto:shaunam@assoqh.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. Corrections may be returned by e-mail, fax, or mail. The Comments feature in Adobe Acrobat or Reader may be used to insert changes and comments within the proof PDF. For faxed or mailed corrections, changes to the proof should be made neatly and clearly in the margins of the proof. Changes sent by e-mail to the technical editor must indicate page, column, and line numbers for each correction to be made on the proof.

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 (<http://www.journalofdairyscience.org/inpress>) and remain there until the article is published in a monthly issue of the journal. Minor corrections may be made to the article between its posting to the AiP site and final publication.

#### **Online-Only Data Supplements**

Authors may present material online that cannot physically be displayed in the print journal (e.g., Excel files, video) or that might be cost-prohibitive (e.g., extra tables or large data sets), or that is too detailed for publication in print. Authors must reference all supplemental data in the text in the following form: Supplemental Table (Figure) S1; <http://dx.doi.org/10.3168/jds.20XX-XXXXX>. Supplemental material must go through the review process, and consequently should be in an application or format easily accessible by most reviewers and readers.

#### **Audio Slides**

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief (less than 5 minutes), webinar-style presentations that are shown next to the article on ScienceDirect. This gives authors an opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. More information and examples are available at <http://www.elsevier.com/audioslides>. You will receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after your paper has been posted to the Articles in Press site.

## Appendix 1 ABBREVIATIONS

Revised December 2015

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

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  
 DEAE = diethyl amino ethyl  
 DNA = deoxyribonucleic acid  
 DNase = deoxyribonuclease  
 EDTA = ethylenediaminetetraacetate  
 EGTA = ethylene glycol tetraacetate  
 ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay  
 FSH = follicle-stimulating hormone  
 GAPDH = glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase  
 GnRH = gonadotropin-releasing hormone  
 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  
 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  
 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 = β-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  
 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 (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<sup>2</sup> = heritability\*  
 HTST = high temperature, short time  
 IGF = insulin-like growth factor  
 IMI = intramammary infection  
 α-LA = α-lactalbumin  
 β-LG = β-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  
 NDF = neutral detergent fiber  
 NDIN = neutral detergent insoluble N  
 NDM = nonfat dry milk  
 NEAA = nonessential amino acid  
 NE<sub>G</sub> = net energy for gain  
 NE<sub>L</sub> = net energy for lactation  
 NE<sub>M</sub> = 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<sup>2</sup> = 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  
 SNP = single nucleotide polymorphism  
 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

\*Use generally restricted to tables and parenthetical expressions; spell out at first use in running text.

**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	millimole (mass)	mmol
atmosphere	atm	minute(s)	min
base pair	bp	molar (concentration)	<i>M</i>
calorie (gram)	cal	molar (mass)	mol
celsius (with number)	°C	mole (number, mass)	mol
centimeter	cm	month(s)	mo
centimeter, square	cm <sup>2</sup>	morning/afternoon	a.m./p.m.
circa	ca.	nano	n (prefix)
centimorgan	cM	newton	N
centipoise	cP	normal (concentration)	<i>N</i>
central processing unit	CPU	nanogram	ng
colony-forming unit	cfu	osmolality	use mmol/kg
counts per minute	cpm	outside diameter	o.d.
counts per second	cps	parts per billion	ppb (use µg/kg or equivalent)
crossed with, times	×	parts per million	ppm (use mg/kg or equivalent)
cubic	cu	pascal	Pa
cubic centimeter	cc, cm <sup>3</sup>	pico	p (prefix)
cubic millimeter	mm <sup>3</sup>	picogram	pg
curie	Ci	plaque-forming unit	pfu
cycles per second (hertz)	Hz	probability	<i>P</i>
day(s)	d	revolutions per minute	rpm
dalton	Da	second(s)	s
deci	d (prefix)	siemens	S
deciliter	dL	species	spp.
electron volt	eV	subcutaneous	s.c.
equivalents	Eq	subspecies	ssp.
foot-candle	use lx	unit	U
gram	g	volt	V
gravity	<i>g</i>	volume	vol
hectare	ha	volume/volume	vol/vol (use parenthetically)
hour(s)	h	watt	W
inside diameter	i.d.	week(s)	wk
international unit	IU	weight/volume	wt/vol (use parenthetically)
intramuscularly	i.m.	year(s)	yr
intraoperatively	i.p.		
intravenously	i.v.		
joule	J	<b>Amino Acids</b>	
kilo	k (prefix)	alanine	Ala
kilobase	kb	arginine	Arg
kilobyte	KB	asparagine	Asn
kilocalorie	kcal	aspartic acid	Asp
kilogram	kg	citrulline	Cit
kilopascal	kPa	cysteine	Cys
liter	L	glutamic acid	Glu
logarithm (natural)	ln	glutamine	Gln
logarithm (base 10)	log <sub>10</sub>	glycine	Gly
lux	lx	histidine	His
mega	M (prefix)	isoleucine	Ile
meter	m	leucine	Leu
metric tonne	tonne or t	lysine	Lys
micro	µ (prefix)	methionine	Met
microcurie	µCi	ornithine	Orn
microfarads	µF	phenylalanine	Phe
microgram	µg	proline	Pro
microliter	µL	serine	Ser
milli	m (prefix)	threonine	Thr
milliliter	mL	tryptophan	Trp
millimeters of mercury	mm Hg	tyrosine	Tyr
millimolar (concentration)	mM (= mmol/L)	valine	Val

## VITA

Elissa Forgiarini Vizzotto, nascida em 12 de janeiro de 1987 na cidade de Faxinal do Soturno, Rio Grande do Sul. Filha de Carmem Forgiarini Vizzotto e Gilberto Vizzotto. Realizou o seu ensino médio no Colégio Agrícola de Santa Maria na área concomitante, onde em 2005 recebeu o título de Técnica agrícola, habilitação em Agropecuária.

Em 2007 ingressou no curso de Zootecnia, na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), se tornando bolsista da fundação de amparo a pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS), contribuindo para o andamento das pesquisas realizadas no setor de bovinocultura de leite da UFSM, durante todo o seu período de faculdade.

Seu estágio final de curso foi realizado na central das cooperativas gauchas do RS (CCGL), onde atuou com colaboradora no tambo de pesquisa experimental e na equipe de difusão de tecnologias.

No ano de 2012 iniciou seu Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), na área de concentração em Produção Animal, com ênfase em nutrição e produção de bovinos de leite, tendo como orientadora a Dr. Vivian Fischer. Sendo contemplada com bolsa Cnpq.

Em 2014 iniciou seu Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UFRGS na área de concentração em Produção Animal, e linha de pesquisa em Sistemas de Produção e Nutrição de Ruminantes, se tornando bolsista Cnpq.

Durante sua vida acadêmica e profissional, atuou em projetos de pesquisa em nutrição, estresse térmico de bovinos leiteiros e produção e qualidade do leite, publicando e colaborando com a publicação de artigo científicos e resumos em congressos.