

A suplementação com proteína de baixa degradabilidade ruminal na produção de leite de ovelha da raça Serra da Estrela no início da lactação

Supplementation with lower ruminal degradability protein in Serra da Estrela sheep's milk production in early lactation

Ana T. Belo*, Maria R. Marques, José M.B.F. Ribeiro e Carlos C. Belo

Unidade Estratégica de Investigação e Servicos de Produção e Sanidade Animal, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, INIAV IP, Fonte Boa, Vale de Santarém, Portugal (*E-mail: anateresa.belo@iniav.pt) https://doi.org/10.19084/rca.29383

Recebido/received: 2023.01.26 Aceite/accepted: 2023.05.02

RESUMO

A proteína das pastagens com gramíneas e leguminosas tem alta degradabilidade ruminal. A suplementação com fontes proteicas de menor degradabilidade ruminal aumenta o fluxo de aminoácidos para o intestino delgado, complementando os produzidos no rúmen. Este estudo avaliou o efeito da suplementação com glúten de milho (CGM) na produção e composição do leite de ovelhas no início da lactação e nos parâmetros metabólicos que caracterizam o seu metabolismo. As ovelhas foram alojadas individualmente e alimentadas com erva cortada diariamente, sendo sujeitas a três tratamentos isoenergéticos com três níveis de proteína na MS (17, 21 e 25%), fornecidos por mandioca e CGM. A ordenha foi iniciada após os 21 dias de lactação. Foi medida a ingestão e registados o peso e a condição corporal das ovelhas. Amostras de sangue foram recolhidas aos 10º, 25º e 39º dias de lactação para determinação de parâmetros hormonais e metabólicos. A utilização de CGM aumentou a ingestão de erva e o nível de 21% de PB incrementou a produção de leite e dos seus componentes. A mobilização das reservas corporais foi significativa nas primeiras três semanas de lactação. A insulina e a ureia-N revelaram-se importantes indicadores do processo metabólico em ovelhas no início da lactação.

Palavras-chave: Leite de ovelha; início da lactação; pastagens; glúten de milho; metabolismo.

ABSTRACT

Protein from grass and legume pastures has high ruminal degradability. Supplementation with protein sources of lower rumen degradability increases the flow of amino acids to the small intestine, complementing those produced in the rumen. This study evaluated the effect of corn gluten meal (CGM) supplementation in milk production and composition of sheep in early lactation and on metabolic parameters used to characterize their metabolism. Ewes were individually housed, fed with grass cut daily and subjected to three isoenergetic treatments with three crude protein (CP) levels (17, 21 and 25%), supplied by cassava and CGM. Milking was started after 21 days of lactation. Intake was measured and the weight and body condition of the ewes were recorded. Blood samples were collected at the 10th, 25th and 39th days of lactation to determine hormonal and metabolic parameters. The use of CGM increased the intake of grass and the level of 21% CP increased milk production and its components. The mobilization of body reserves was significant in the first three weeks of lactation. Insulin and urea-N proved to be important indicators of the metabolic process in early lactation.

Keywords: Sheep's milk; early lactation; pastures; corn gluten meal; metabolism.

INTRODUÇÃO

As ovelhas Serra da Estela constituem atualmente o maior efetivo das raças autóctones portuguesas exploradas para a produção de leite. O nível produtivo médio estimado destas ovelhas, 155,1±47,6 litros aos 150 dias de lactação (SPOC, 2023), possibilita que a maior parte da produção de leite possa ser efetuada exclusivamente com a ingestão de erva. Nas condições climáticas mediterrânicas, este maneio alimentar pode ser exequível com a utilização de pastagens de sequeiro e alguma rega de apoio, permitindo uma disponibilidade contínua de erva para pastoreio entre setembro e maio, contornando assim a imprevisibilidade da precipitação atmosférica, que obriga os agricultores ao sistemático recurso à suplementação e a alimentos conservados. Uma utilização eficiente dos recursos pratenses dependerá do ajustamento entre a quantidade e qualidade da forragem disponível e do cuidado a ter com o fornecimento de alimentos concentrados em energia e proteína, que em ovelhas Serra da Estrela se refere apenas às primeiras semanas de lactação, em que produção leiteira aumenta acentuadamente e as ovelhas com partos múltiplos têm a sua ingestão de alimentos fibrosos diminuída, resultando numa mobilização acentuada das reservas corporais, que se pretende seja limitada temporalmente.

A eficiência de captura do azoto pelos microrganismos do rúmen depende da degradabilidade da proteína da dieta e também da existência de energia facilmente utilizável, indicando Botts et al. (1979) que o excesso no fornecimento de proteína na dieta provoca perdas energéticas relacionadas com a síntese da ureia no fígado, a partir da amónia em excesso. Assim, o fornecimento de fontes proteicas de diferente degradabilidade no rúmen tem como objetivo, não só suprir a quantidade de proteína total de acordo com as necessidades produtivas (NRC, 2007), proveniente da síntese microbiana e do alimento, mas também a melhoria da composição em aminoácidos (AA) dessa proteína (Whitelaw *et al.*, 1986). As pastagens de gramíneas e leguminosas das regiões temperadas são ricas em proteína muito degradável, superior a 70% da PB total (Hongerholt & Muller, 1998). Em vacas leiteiras, vários autores referem que a suplementação com proteína não degradável no rúmen (RUP) aumenta o fluxo de AA para o intestino delgado, além

do proporcionado pelos AA provenientes da proteína microbiana produzida no rúmen. Broderick et al. (2002) referiram um aumento da produção de leite, utilizando bagaço de soja por pressão como suplemento. Em estudos com ovelhas leiteiras, Mikolayunas-Sandrock et al. (2009) utilizando feno como alimento base e Mikolayunas et al. (2011) com ovelhas em pastoreio, estudaram o efeito do nível da RUP nas dietas. Também Belo (2000), num ensaio com ovelhas Serra da Estrela estabuladas no início da lactação alimentadas com erva, e posteriormente com ovelhas em pastoreio (Belo et al., 2019), conseguiram melhores produções de leite em ovelhas suplementadas com glúten de milho em comparação com as suplementadas com milho.

O presente estudo pretende conhecer: 1) a importância do glúten de milho como suplemento de ovelhas a consumir forragem produzida em pastagens de gramíneas e leguminosas, durante a fase inicial da lactação; 2) avaliar o nível proteico mais adequado para a produção e composição do leite e; 3) identificar os parâmetros metabólicos que melhor caracterizam o metabolismo intermédio das ovelhas nesta fase da lactação.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 27 ovelhas da raça Serra da Estrela (nove por tratamento) escolhidas com os seguintes critérios: condição corporal (CC) ao parto ≥ 2,5; coincidência em relação à data de parto e equilíbrio dos grupos em relação ao número de borregos aleitados por ovelha. As ovelhas foram alojadas em parques individuais na última semana de gestação. Após o nascimento os borregos permaneceram com as mães todo o dia, até aos 21 dias de idade. A partir desta altura (desmame parcial) e até ao desmame total aos 42 dias de idade, os borregos foram separados diariamente, entre as 17:30 e as 08:00h do dia seguinte, juntando-se às mães após estas serem ordenhadas manualmente. Durante o período de separação, os borregos tiveram acesso a feno de luzerna (17% de PB na MS) e alimento concentrado de iniciação (18% de PB na MS).

As ovelhas receberam erva cortada diariamente de uma pastagem composta por azevém (Lolium perene, cv. Victorian), trevo branco (Trifolium repens,

cv. Pitau), trevo morango (Trifolium fragiferum, cv. Palestine) e festuca (Festuca arundinacea, cv. Clarine). A erva foi distribuída ad libitum, sendo considerada uma ingestão de 1,3 kg de matéria seca (MS) ovelha.dia-1 baseada num trabalho anterior (Belo, 2000) e um teor de 20,5% de PB, resultado de avaliações prévias da pastagem. Foram estabelecidos três suplementos isoenergéticos, distribuídos numa quantidade que garantiu o fornecimento de 0,9 Mcal de energia metabolizável (EM) e três níveis de PB na dieta (17, 21 e 25% na MS). Os suplementos alimentares utilizados foram mandioca (MAND) e glúten de milho (CGM), e as quantidades atribuídas aos tratamentos (17PB, 21PB e 25PB) encontram-se no Quadro 1. A erva da pastagem foi cortada diariamente, pesada e colocada nos comedouros individuais às 9:00 e retirada às 17:30h, sendo pesados os refugos. Foi considerado um excesso de 15% na erva distribuída, tendo em conta a média do consumo dos dois dias anteriores. Às 18:00h procedeu-se à distribuição do suplemento. A avaliação da qualidade nutritiva da erva distribuída baseou-se em duas amostras colhidas no início e a meio de cada semana, imediatamente antes da distribuição aos animais. A composição florística foi determinada por amostragem semanal feita na faixa que iria ser cortada nesse dia.

Quadro 1 - Ingredientes dos suplementos distribuídos

	Suplementos					
(g de MS/dia)	17% PB	21% PB	25% PB			
Mandioca (MAND) ^{1,2}	310	226	142			
Glúten de milho (CGM)1,3	0	78	155			

¹ MAND: 83,0% MS, 2,9% de PB na MS; CGM: 86,1% MS, 81,3% de PB na MS

As ovelhas foram pesadas após o parto e no final do período de ensaio. A avaliação da condição corporal (Russel et al., 1969) foi igualmente realizada nestas duas alturas e no início do período de ordenha parcial (aos 21 dias de lactação). Os borregos foram pesados semanalmente. A quantidade de leite produzido no período de aleitamento total dos borregos foi estimada pelo método da dupla injeção de ocitocina (Geenty & Sykes, 1986), na

2ª semana de lactação. No período de ordenha parcial, as ovelhas foram ordenhadas às 8:00h. Nesta fase procedeu-se ainda à estimativa da quantidade de leite disponibilizado pelas ovelhas aos borregos durante o período das 8:00 às 17:30h e da proporção de leite residual retido após a ordenha das 8:00h. Foi medida a quantidade de leite e recolhidas amostras de todas as frações de leite obtido para a realização de determinações analíticas. Foram determinados os teores em gordura, proteína, lactose e sólidos totais, por espetrofotometria de infravermelhos (MilkoscanTM 133B, Foss Electric).

Realizaram-se colheitas de sangue no 10º, 25º e 39º dias de lactação, às 8:00, 17:00, 24:00h. Os parâmetros doseados foram os seguintes: ácidos gordos não esterificados (AGNE), β-hidroxibutirato (BHBA), creatinina (CREAT), glucose (GLU), lípidos totais (LT), proteína total (PT), triglicéridos (TRIG), ureia (Ureia-N), insulina (INS) e triiodotironina (T3). Os doseamentos foram realizados utilizando kits comerciais, à exceção da GLU em que foi utilizado o método da ortotoluidina em ácido acético glacial (Hyvarinen & Nikkila, 1962), por métodos colorimétricos ou de radioimunoensaio (T3 e INS).

A análise estatística dos dados recolhidos foi baseada em análises de variância e testes de comparações múltiplas. Para as medições repetidas no tempo, como as produções leiteiras e crescimento dos borregos, foi adotado o procedimento MIXED MODEL (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA) com um modelo linear para analisar as diferentes colheitas; no caso do doseamento dos parâmetros sanguíneos, o modelo linear considerou duas medidas repetidas no tempo, colheita e horas de colheita, utilizando o produto de Kronecker, uma matriz de covariância estruturada, de acordo com Bobe et al. (2003).

Sempre que o efeito da interação não foi significativo, este termo foi retirado do modelo. Os testes de comparação múltipla das médias, teste de Tukey, cujos efeitos resultaram significativos, foram realizados utilizando as médias dos mínimos quadrados (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA), considerando o nível de significância de 95%. Foram testados os pressupostos da análise de variância para cada modelo ajustado, nomeadamente a normalidade e a homogeneidade de variâncias

²2,91 Mcal.kg MS⁻¹ de EM (Feedipedia, 2012-2022)

³3,18 Mcal.kg MS⁻¹ de EM (NRC, 2007)

aplicando os testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, respetivamente, recorrendo à transformação das variáveis quando necessário. No entanto, os valores médios apresentados nos diversos quadros e figuras são sempre as médias de mínimos quadrados sem transformação de modo a tornar os resultados mais compreensíveis.

RESULTADOS

Qualidade e Composição Florística da Pastagem

Os valores médios, em percentagem da MS, da avaliação analítica das amostras de erva recolhidas estão no Quadro 2. A EM calculada (Boletim Técnico nº33, M.A.F.F., 1975) foi de 2,2±0,68 Mcal.kg MS-1, verificando-se que o teor de PB da MS da erva foi ligeiramente superior ao utilizado para formulação das dietas (20,5%PB). As espécies dominantes foram a festuca e o azevém que, em conjunto, contribuíram com cerca de 60% da MS total disponível na pastagem. O trevo branco e o trevo morango representaram cerca de 22% da MS total, tendo o trevo branco a proporção mais elevada (14,5% do total de MS).

Quadro 2 - Composição analítica das amostras de erva recolhidas, e coeficientes de variação

	% da MS
MS ¹	14,9±8,92
PB^2	21,6±3,24
NDF ³	46,6±4,01
ADF ³	30,2±1,94
Cinzas	13,1±4,93
Digestibilidade da MO ⁴	67,1±3,15

Notas: Análises realizadas de acordo com a metodologia em vigor na Estação Zootécnica Nacional, INIAV

Consumo de MS e PB

Os consumos de erva registados ao longo das seis semanas não diferiram entre as três dietas (P>0,05),

embora as ovelhas submetidas ao tratamento 17PB tivessem consumido em média 1,133 kg MS.dia-1, menos cerca de 0,2 kg MS.dia-1 em relação à média dos outros dois tratamentos. Ao longo do ensaio a ingestão de erva foi semelhante nos três grupos, a média foi de 0,904 kg MS.dia-1 na 1ª semana, valor significativamente inferior (P<0,05) ao observado nas restantes semanas. Em relação ao peso metabólico (kg^{0,75}), o consumo de MS foi crescente para os três tratamentos ao longo das seis semanas (P<0,05) (Figura 1). Na 1ª semana foi semelhante, média de 44,36 g MS.dia-1 por kg PV0,75, mas a partir da 4ª semana, as ovelhas nos tratamentos 21PB e 25PB consumiram quantidades semelhantes de MS, média de 72,28 g.dia-1 por kg PV^{0,75}, e significativamente superiores (P<0,05) ao registado para as ovelhas em 17PB (53,33 g.dia-1 por kg PV0,75).

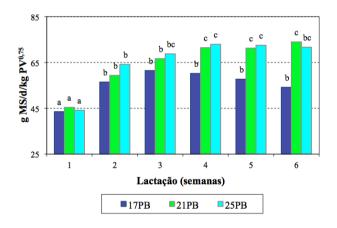


Figura 1 - Consumo médio diário de matéria seca de erva (em g MS. dia-1 por kg PV0,75), para os três níveis de PB na dieta ao longo das 6 semanas de lactação

Nota: médias com letras diferentes são significantemente diferentes, para P<0,05

Em relação aos valores diários de ingestão de PB resultantes do consumo de erva, não se registaram diferenças significativas (P>0,05) entre os três grupos de ovelhas. Todavia, as diferenças foram significativas para a dieta total (P<0,05) entre os três níveis de suplementação, valores médios de 253,7, 357,2,6 e 420,0 g PB.dia-1, a que corresponderam concentrações proteicas das dietas ligeiramente superiores ao inicialmente pretendido, respetivamente de 17,6, 21,9 e 25,6% de PB.

¹NP ISO 6496:2018

² NP EN ISO 005983-2:2009

³ NP EN ISO 16472:2013 e EN ISO 13906:2008

⁴ Tilley & Terry(1961)

Evolução dos pesos vivos e da condição corporal

O peso vivo (PV) médio ao parto foi de 57,8 kg, semelhante para as ovelhas nas três dietas (P>0,05). A maior perda de PV durante as seis semanas correspondeu às ovelhas a receber a dieta 17PB (-6,44 kg), que foi significativamente superior (P<0,05) à variação de peso (-1,43 kg) das ovelhas com a dieta 25PB, enquanto as ovelhas com 21PB perderam 3,56 kg de PV. A CC, com valores médios de 2,59 ao parto e 2,43 aos 42 dias de lactação, não sofreu diferenças significativas (P>0,05) no decorrer do estudo. A perda de CC ocorreu apenas entre o parto e o 21ºdia de lactação, em que as ovelhas com as dietas 17PB, 21PB e 25PB perderam 0,17, 0,25 e 0,08 pontos de CC respetivamente.

A evolução do PV dos borregos foi idêntica para todos os tratamentos ao longo do período de ensaio. A média dos PV registados foi de 4,25, 8,89 e 11,81 kg, respetivamente para os PV ao nascimento, ao desmame parcial (21 dias de idade) e ao desmame total (42 dias de idade).

Produção e qualidade do leite

Os níveis de PB na dieta não tiveram um efeito significativo (P>0,05) na quantidade e composição do leite correspondente à fase de aleitamento total. No entanto, as estimativas da produção de leite obtidas no período de 4 horas para as ovelhas nos níveis 17PB (292,8 ml) e 21PB (300,1 ml) foram superiores às do tratamento 25PB (216,0 ml). Também a composição do leite obtido nesta fase foi semelhante para as ovelhas dos três tratamentos, médias de 6,91%, 4,38% e 4,90% para os teores em gordura (TG), proteína (TP) e lactose (TL).

A quantidade de leite estimada na fase de aleitamento parcial, correspondente ao período em que os borregos estavam com as mães (9:00h por dia), foi superior, embora não significativamente (P>0,05), para as ovelhas em 21PB (538,1 ml) e semelhantes para os grupos 17PB e 25PB, respetivamente 367,5 e 341,2 ml. A composição do leite revelou teores de TG, TP e TL semelhantes para os três tratamentos, médias de 6,68%, 4,94% e 4,85%, respetivamente.

A quantidade média de leite ordenhado, durante a fase de aleitamento parcial dos borregos, foi mais elevada nas ovelhas a receber a dieta 21PB (683,1 ml.d-1; P<0,05) do que nas ovelhas em 17PB (455,2 ml.d-1) e 25PB (465,7 ml.d-1). Durante este período da lactação observou-se um aumento de produção para os três tratamentos, sendo significativa (P<0,05) a diferença entre os valores médios registados na 4ª e na 6ª semana, respetivamente 507,7 e 562,6 ml.d-1. Em relação à composição percentual do leite ordenhado não se verificaram diferenças significativas (P>0,05) entre os níveis de PB na dieta para os três componentes analisados, valores médios de 3,58% para TG, 5,13% para TP e 5,04% para TL.

A quantidade de leite retido pelas ovelhas após a ordenha (leite residual), medido na 5ª semana, foi semelhante (P>0,05): 122,0 ml, 165,0 ml e 114,4 ml, respetivamente para 17PB, 21PB e 25PB. A composição química não foi significativamente diferente (P>0,05) entre os três grupos de ovelhas, registando-se os teores médios de 4,67%, 4,19% e 4,79% para a TG, TP e TL, respetivamente.

Parâmetros metabólicos e hormonais

Em relação à GLU não se verificaram diferenças significativas entre tratamentos (Quadro 3), obtiveram-se as concentrações médias de 4,282, 4,289 e 4,655 mmol.l-1 para os tratamentos 17PB, 21PB e 25PB, respetivamente. As concentrações aumentaram no decorrer da lactação e significativamente entre o 10° e o 25° dia, valores de 3,882, 4,575 e 4,770 mmol.l-1 respetivamente. O Quadro 4 evidencia as diferentes concentrações de glucose verificadas durante o dia, maiores para o tratamento 17PB, em que as determinações às 17:00h (3,965 mmol.l-1) e às 24:00h (4,748 mmol.l-1) foram significativamente diferentes (P<0,05).

O Quadro 3 mostra que os valores da concentração de AGNE foram semelhantes entre os tratamentos, evidenciando-se um decréscimo significativo (P<0,05) ao longo da lactação, entre 0,624 mmol.l-1 no 10º dia e 0,297 mmol.l-1 no 39º dia. Em relação à variação diária, os níveis médios de AGNE foram significativamente superiores (P<0,05) na

Quadro 3 - Valores dos parâmetros metabólicos obtidos de acordo com os tratamentos e dias de colheita, e nível de significância dos efeitos

	Dietas			Dias de lactação			- Significância	
	17PB	21PB	25PB	10°	25º	39⁰	Dietas	Dias lact.
GLU, mmol.l-1	4,282	4,289	4,655	3,882a	4,575b	4,770b	NS	<0,0001
AGNE, mmol.l-1	0,431	0,496	0,385	0,624°	0,391 ^b	0,297a	NS	<0,0001
INS, μUI.ml ⁻¹	14,63b	12,87a	20,47c	15,18	15,87	16,92	0,0002	NS
BHBA, mmol.l-1	0,687	0,697	0,615	0,770 ь	0,639a	0,591a	NS	<0,0001
LT, g.l-1	2,31b	2,07a	2,05a	2,26b	2,12ab	2,04a	0,0160	0,0113
PT, g.l ⁻¹	70,88a	$74,04^{ab}$	77,40 ^b	74,67	73,22	74,62	0,0018	NS
Ureia-N, mg.dl ⁻¹	19,17a	26,84 ^b	34,76°	26,15a	25,60a	28,69b	<0,0001	0,0304
TRIG, mmol.l-1	0,148	0,130	0,135	0,141	0,140	0,132	NS	NS
CREAT, µmol.l-1	75,16	71,49	72,83	74,50	72,57	72,41	NS	NS
T3, ng.ml ⁻¹	1,406	1,338	1,309	1,376	1,359	1,317	NS	NS

Nota: médias com letras diferentes são significantemente diferentes, para P<0,05

Quadro 4 - Valores dos parâmetros metabólicos obtidos de acordo com a interação entre os tratamentos e horas de colheita, e nível de significância

		17PB		21PB			25PB			-
	08:00h	17:00h	24:00h	08:00h	17:00h	24:00h	08:00h	17:00h	24:00h	Signifi- cância
GLU, mmol.l-1	4,118ab	3,965a	4,748b	4,351ab	4,167ab	4,435ab	4,715ab	4,586ab	4,757₺	0,0008
AGNE, mmol.l-1	0,691b	0,369a	0,219a	0,661b	0,328a	$0,433^{ab}$	0,613b	$0,244^{a}$	0,300a	<0,0001
INS, μUI.ml ⁻¹	12,29ab	14,43abc	17,16 ^{bc}	8,85a	13,65ab	16,12bc	15,65bc	20,05c	25,72 ^d	<0,0001
BHBA, mmol.l-1	0,659ab	0,771°	0,623ab	$0,710^{ab}$	0,755bc	0,616a	0,621ab	0,653ab	0,569a	<0,0001
LT, g.l ⁻¹	2,44c	2,26b	2,22b	2,18b	2,02a	2,01a	2,18b	2,00a	1,94a	<0,0001
PT, g.l ⁻¹	71,66	69,80	71,07	75,17	73,37	73,72	78,26	76,80	77,68	NS
Ureia-N, mg.dl-1	15,47a	24,45bc	17,58a	24,62bc	32,30 ^d	23,61 ^b	34,67e	39,82 ^f	29,80 ^{cd}	<0,0001
TRIG, mmol.l-1	0,193	0,129	0,121	0,156	0,109	0,126	0,168	0,124	0,115	<0,0001
CREAT, µmol.l-1	73,70ab	78,31 ^b	73,47ab	72,28ab	74,65b	67,53a	73,09ab	74,86b	70,55a	<0,0001
T3, ng.ml ⁻¹	1,337	1,460	1,452	1,184	1,483	1,396	1,216	1,436	1,258	NS

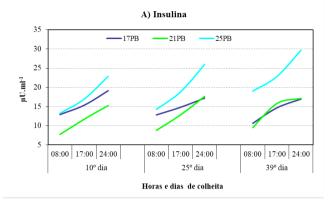
Nota: médias com letras diferentes são significantemente diferentes, para P<0,05

determinação das 8:00h, em todos os tratamentos (Quadro 4).

A concentração média de INS (Quadro 3) foi significativamente diferente (P<0,05) nos três tratamentos, maior em 25PB (20,47 µU.ml-1) menor em 21PB (12,87 µU.ml-1), registando um valor intermédio (14,63 μU.ml⁻¹) em 17PB e manteve-se constante ao longo da lactação. O Quadro 4 mostra que a concentração sérica de INS aumentou significativamente (P<0,05) ao longo dos dias de amostragem, sendo superior às 24:00h para os três tratamentos. Porém, foi no tratamento 25PB que se registou o valor de concentração mais elevado (25,72 µU.ml-1) (Figura 2A), bastante superior ao verificado para os tratamentos 17PB e 21PB, respetivamente 17,16 e 16,12 μU.ml⁻¹.

As concentrações séricas de BHBA não evidenciaram diferenças significativas para qualquer dos tratamentos. Ao longo da lactação observou-se uma diminuição significativa (P<0,05) dos valores médios obtidos para os três tratamentos, variando entre 0,770 mmol. l^{-1} ao 10° dia e 0,591 mmol. l^{-1} ao 39º dia (Ouadro 3). Durante o dia a variação foi diminuta, com tendência para aumentar na determinação às 17:00h (Quadro 4).

A concentração dos LT registou valores significativamente superiores (P<0,05) para a dieta 17PB, 2,31 vs 2,07 e 2,05 g.l-1 para as dietas 21PB e 25PB respetivamente. Também os valores de LT no 10º dia de lactação foram significativamente superiores (P<0,05), quando comparados com os registados no 39º dia (Quadro 3). O Quadro 4 mostra que os valores diários da concentração de LT foram



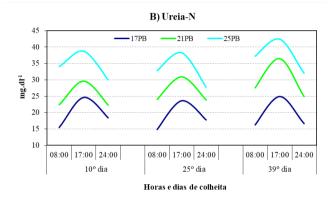


Figura 2 - Concentrações séricas de INS (A) e Ureia-N (B) determinadas em colheitas realizadas no 10º, 25º e 39º dias de lactação, às 8:00, 17:00 e 24:00 horas, para os três níveis de PB na dieta.

(Nota: a distribuição de alimento foi: erva às 9:00h e suplemento às 18:00h, após retirar a erva não consumida às 17:30h.)

significativamente superiores (P<0,05) na determinação das 8:00h nos três tratamentos, destacando-se o valor máximo de 2,44 g.l-1 verificado nas ovelhas em 17PB.

Os valores médios da concentração sérica de PT das ovelhas no nível 25PB (77,40 g.l-1) foram significativamente superiores (P<0,05) em relação aos das ovelhas em 17PB (70,88 g.l-1), tendo as ovelhas em 21PB registado um valor intermédio (74,04 g.l-1). Não se verificaram variações ao longo da lactação, nem entre horas de amostragem para qualquer dos tratamentos (Quadros 3 e 4).

O Quadro 3 mostra que a concentração de Ureia-N variou significativamente (P<0,05) entre os tratamentos, registando-se as médias de 19,17, 26,84 e 34,76 mg.dl⁻¹ em 17PB, 21PB e 25PB respetivamente. Os valores da concentração também foram

significativamente superiores (P<0,05) no 39º dia de lactação (28,69 mg.dl-1), em relação aos dos outros dois dias de amostragem, em que foram semelhantes. O Quadro 4 refere que a concentração média obtida às 17:00h foi significativamente superior (P<0,05) para qualquer dos tratamentos e dias de lactação, mas com valores médios mais elevados nos grupos 21PB (32,30 mg.dl-1) e 25PB (39,83 mg. dl-1) do que em 17PB (24,45 mg.dl-1). Todavia, enquanto que, para o tratamento 21PB as concentrações foram semelhantes às 24:00 e 8:00h, respetivamente 23,07 e 24,62 mg.dl-1, para o tratamento 25PB a concentração registada às 8:00 h (34,68 mg.dl-1) foi bastante superior à obtida às 24:00 h (29,50 mg.dl-1) (Figura 2B).

Para os parâmetros TRIG, CREAT e T3 não se registaram diferenças significativas entre tratamentos e dias de amostragem (Quadro 3). A variação das concentrações diárias mostra um padrão comum para os três tratamentos, mas distinto entre os três parâmetros, concentrações superiores na colheita das 8:00 h nos TRIG e na colheita das 17:00 h no caso da CREAT e da T3 (Quadro 4).

DISCUSSÃO

A ingestão de MS de erva das ovelhas suplementadas com MAND (0,9 Mcal EM.dia-1), grupo 17PB, foi em média de 1,133 kg.dia-1 (54,05 g.dia-1/kg^{0,75} à 6ª semana), semelhante ao verificado em ovelhas suplementadas com milho (1,072 kg.dia-1; 57,5 g/kg 0,75 à 6ª semana) num estudo de protocolo semelhante (Belo, 2000), em que a suplementação energética foi de 1,33 Mcal EM.dia-1 e se pretendia garantir a passagem de algum amido ao intestino delgado, pela sua menor degradabilidade ruminal (Owens et al., 1986). No presente estudo, sendo o amido da MAND maioritariamente utilizado ao nível do rúmen (Caldas et al., 2007; Nocek & Tamminga, 1991), a síntese de proteína microbiana terá sido potenciada, aumentando o seu fluxo para o intestino delgado e o seu contributo para a formação da proteína do leite (Poore et al., 1993).

O consumo total de MS de todos os tratamentos foi inferior aos valores referidos em NRC (2007), 2,2 e 2,5 kg de MS em dietas com 14,1 a 15,9% de PB, para ovelhas com 55 kg de PV a amamentarem um ou dois borregos respetivamente. Uma das causas desta diferença terá sido o menor tempo disponível para a ingestão da erva (8:30h), comum nos dois estudos que vimos referindo, mas não justificativo da menor ingestão total, comum às suplementações com amido, e ao facto de a ingestão das ovelhas com este tipo de suplementação não ter aumentado ao longo das seis semanas.

A suplementação com amido, visando o aumento da densidade energética das dietas, tem sido objeto de muita investigação, sobretudo em vacas leiteiras, mas leva à diminuição do pH do rúmen (Mould & Orskov, 1983) e à necessidade de administração de fibra para evitar perturbações digestivas (Giger-Reverdin & Sauvant, 1991). Abijaoudé et al. (2000), num estudo com cabras leiteiras, afirmaram que, apesar do aumento da acidez ruminal, o amido de maior degradabilidade aumenta a ingestão e a produção de leite. Aliás, a dieta 17PB com um teor médio de 38,4% de NDF, está de acordo com os estudos de Avondo & Cannas (2001) que indicam os 37% de NDF para a obtenção de boas ingestões de MS e de produção de leite, também cumprindo as recomendações do NRC (2001), que sugere dietas em que 75% do NDF seja proveniente de forragem, para que seja assegurado um bom funcionamento do rúmen. Assim, a menor ingestão de MS das ovelhas suplementadas com amido pode estar relacionada com o fornecimento do suplemento numa única refeição, o que pode ter potenciado o decréscimo do pH do rúmen, ocasionando uma menor digestibilidade da fibra da erva (Bachman, 1992) e a consequente quebra da ingestão.

Os valores de AGNE para os três tratamentos, e o seu escalonamento ao longo da lactação, estão de acordo com a avaliação da CC, apenas com algum significado nas primeiras três semanas, em que se verificaram quebras maiores de CC em 21PB e 17PB. Também em Belo (2000), o teor médio diário de AGNE foi mais relevante ao 10º dia de lactação, superior para as ovelhas suplementadas com "glúten de milho" (CGF) em relação às suplementadas com milho, respetivamente 0,686 e 0,499 mmol l-1 (com teores de 1,041 e 0,804 mmol l-1 às 8:00h do 10º dia), ovelhas que também perderam mais CC entre o parto e o 21ºdia de lactação, -0,4 vs -0,31 pontos.

A regulação homeorrética da lactação privilegia a partição dos nutrientes para a glândula mamária, alterando a capacidade relativa dos tecidos corporais para responder aos fatores homeostáticos, como a insulina (Bauman & Currie, 1980; Bines & Hart, 1981), tendo Bauman & Elliot (1983) afirmado que as baixas concentrações de insulina reduzem a sua captação pelos tecidos muscular e adiposo, facilitando o aumento da utilização da glucose pela glândula mamária, que é independente da concentração de insulina. Laarveld et al. (1981) sugeriram que, na regulação do metabolismo da glândula mamária, a disponibilidade de substratos é mais importante do que a influência hormonal e que, com altos níveis de ingestão de nutrientes, as necessidades da lactação podem ser satisfeitas enquanto alguma proporção de energia é retida como gordura corporal. Por sua vez, Metcalf & Weekes (1990) verificaram que, em ovelhas lactantes alimentadas ad libitum e em aumento de peso, existe um ajustamento na partição de nutrientes, estimulado pela insulina, com um aumento da sensibilidade da utilização de glucose por outros tecidos corporais, além da glândula mamária.

Em Belo (2000) foi possível observar que ovelhas leiteiras da mesma raça suplementadas com milho ou CGF, apresentaram concentrações médias de INS, medidas nos primeiros 25 dias de lactação de 18,32 µUI ml-1 e de 12,26 µUI ml-1, respetivamente, resultados que, de acordo com Sauvant (1994), podem ser a reação aos níveis de glucose no intestino, provenientes de substratos de menor degradação no rúmen, tendo também algum significado as diferenças entre as concentrações médias de INS, medidas no mesmo período, nas ovelhas suplementadas com milho com produção leiteira de 1300 ml.d-1 e 930 ml.d-1, respetivamente 11,48 vs 18,44 µUI ml¹. Estes processos metabólicos são descritos na literatura como tendo lugar em fases mais avançados da lactação, quando as ovelhas aproveitando o excesso de energia fornecido, em relação às necessidades da produção leiteira, a utilizam para reporem as suas reservas corporais. Contudo, tal como referiram Cannas et al. (1998), em ovelhas de raças menos apuradas para a produção de leite, os factos indicados poderão ocorrer mais cedo, quando são utilizadas dietas com maiores teores de hidratos de carbono não provenientes de forragens. Neste estudo, os níveis médios de INS foram sempre superiores e crescentes ao longo da lactação nas ovelhas com 25PB, atingindo a concentração média das três amostragens diárias

de 23,86 µU.ml-1 no 39º dia, enquanto as ovelhas nos outros dois tratamentos apresentavam um valor médio de 14,14 µU.ml-1. Aliás, a concentração máxima de INS no tratamento 25PB, 29,67 µU.ml-1, foi atingida na colheita das 24:00h do 39º dia, em que as amostragens para os tratamentos 17PB e 21PB, registaram valores de 16,98 e 17,16 µU.ml-1, respetivamente. Os teores de INS referidos para as ovelhas do tratamento 25PB, apreciados em conjunto com as concentrações de UreiaN obtidas para o mesmo tratamento, indicam que uma parte substancial da proteína do CGM, que escapou à digestão ruminal, foi utilizada na gluconeogénese hepática. Neste estudo, tal como em Belo (2000), os níveis de INS mostram que alguns substratos podem ter sido desviados para a reposição das reservas corporais, como indicou Van Knegsel et al. (2007) em estudos com vacas leiteiras. Os autores referiram ser a insulina plasmática um intermediário na alteração da partição de energia no início da lactação, acrescentando que a alimentação com dietas ricas em nutrientes glucogénicos resultam num balanço energético negativo menor, devido aos efeitos anabólicos resultantes da alta concentração de INS. Todavia, a menor produção de leite das ovelhas sujeitas ao tratamento 25PB pode também estar relacionada com o custo energético da síntese da ureia, avaliado por Cannas (2004) como sendo equivalente à energia necessária para a produção de 200 g de leite por cada 100 g de PB em excesso das necessidades das ovelhas.

A erva consumida neste estudo teve um conteúdo proteico de 21,6% na MS (3,6 g N.100 g MS-1), valor bem acima dos 2,5-2,7 g N.100 g MS^{-1} sugeridos por Beever et al. (1986) como valores máximos para limitar a extensa proteólise que ocorre no rúmen quando a erva é a fonte proteica disponibilizada. Mais tarde, Tamminga (1996) indicou que a eficiência da utilização do N no rúmen foi a estratégia mais efetiva para reduzir as suas perdas, seja por redução da degradação da proteína no rúmen ou por um aumento da sua utilização pelos microrganismos ruminais e Bach et al. (2005) indicaram como um objetivo razoável, o fornecimento de 42 g de N disponível por kg de matéria orgânica fermentada no rúmen.

O excesso de PB na alimentação de vacas leiteiras tem sido difícil de identificar, pois as necessidades em PB variam com a quantidade de leite

produzida, a qualidade das fontes proteicas e a ingestão e composição da MS. Num estudo com vacas leiteiras alimentadas com silagem e alimentos concentrados e sem limitação de hidratos de carbono fermentescíveis, Law et al. (2009) verificaram aumentos significativos nas concentrações séricas de ureia e de proteína total (PT), com o aumento do conteúdo proteico da dieta, indicando os níveis de ureia, um aumento de detoxificação da amónia no fígado e a PT a absorção intestinal da proteína. Estes autores concluíram que, no início da lactação, um aumento da proteína até 173 g.kg MS-1 foi benéfico para a ingestão de MS e para a quantidade de leite produzida, contudo, a eficiência da utilização do N para a produção de leite foi reduzida, como indicam os níveis crescentes de ureia plasmática: 1,56; 2,59 e 4,32 mmol.l⁻¹, para os níveis de proteína de 114, 144 e 173 g.kg MS⁻¹, respetivamente. Reynal & Broderick (2005), também com vacas leiteiras alimentadas com dietas compostas por 50% de alimentos fibrosos (silagem de milho e de luzerna) e 50% de alimentos concentrados, ao testarem níveis de proteína degradável no rúmen (RDP), na procura da eficiência da utilização do alimento sem comprometer a produção de leite e reduzindo as perdas ambientais de N, concluíram que um decréscimo do RDP de 13,2 para 11,7% e a PB da dieta de 18,8 para 17% não afetou a produção de leite, mas reduziu a excreção ambiental da Ureia-N em 20%. Porém, em trabalhos incluindo erva na alimentação de vacas leiteiras, salientam-se as investigações de Hoffman et al. (1993) e de Berzaghi et al. (1996) que indicavam que as pastagens das regiões temperadas frequentemente continham mais do que 25% de PB e 20% de RDP, valores bem acima das necessidades das vacas leiteiras de alta produção (NRC, 2001).

Relativamente à utilização de proteína de menor degradabilidade no rúmen (RUP), Hongerholt & Muller (1998), que disponibilizaram dietas com 20% PB e níveis de RUP de 8,4 e 7% fornecidos pelo CGM ou pelo bagaço de soja, respetivamente, a vacas leiteiras, concluíram que a inclusão de RUP na suplementação teve uma menor influência no aumento da quantidade de leite em vacas conduzidas em pastoreio rotacional de Dactylis glomerata. Contudo, na primeira rotação do pastoreio, em que registaram concentrações séricas de 22,3 mg. dl-1 de Ureia-N e de 484 μEq./L de AGNE, as vacas multíparas mostraram uma maior tendência para um aumento da quantidade de leite e de proteína com a mistura de concentrado com a maior percentagem de RUP, salientando que a deficiência em energia das dietas foi mais importante do que a possível falta de alguns AA específicos para absorção no intestino delgado. Mais tarde, McCormick et al. (1999), substituíram parte do bagaço de soja por CGM e farinha de sangue tendo verificado que, em dietas com 22% de PB, conseguiam um aumento na quantidade de leite no início da lactação que, todavia, não persistia nas fases seguintes. Como as vacas foram alimentadas com Lolium multiflorum (40% da ingestão) e com silagem de milho, no estudo seguinte McCormick et al. (2001) incluíram um tratamento com alimentação exclusiva em pastoreio e com suplementos de RUP fornecidos em duas proporções. Os resultados mostraram que os aumentos de RUP melhoraram a produção leiteira das vacas no início da lactação.

Num estudo com ovelhas leiteiras, iniciado após os 100 dias de lactação, Mikolayunas-Sandrock et al. (2009), formularam três dietas isoenergéticas com "cubos" de luzerna e Phleum pratense (60% da MS), variando nas concentrações de RDP e RUP, respetivamente 12%-4%; 12%-6% e 14%-4%. As dietas 12-6 e 12-4 apresentaram uma eficiência de utilização do N semelhante, mas as ovelhas alimentadas com a dieta 12-6 produziram mais leite, gordura e proteína, em comparação com a dieta 12-4. O teor da ureia-N no leite (MUN) revelou-se mais relacionado com a concentração da PB do que com a sua degradabilidade, verificando-se os valores mais elevados em 12-6 e 14-4 (média de 26,86 mg.dl-1). Mikolayunas et al. (2011) também estudaram o efeito da suplementação com RUP em ovelhas leiteiras (após o 100º dia de lactação) alimentadas à manjedoura com diferentes proporções de Dactylis glomerata (11,7% PB) e luzerna (19,4% PB), e com um alimento concentrado, incluindo ou não uma fonte de RUP. A suplementação com RUP não aumentou a ingestão de MS nem a quantidade de leite e de proteína obtidos, facto que os autores atribuíram às menores necessidades das ovelhas, devido à fase adiantada da lactação ou, à menor quantidade de RUP fornecida, estimada em 5,3 e 3,7% da MS. A suplementação não afetou a eficiência de utilização do N e o MUN foi significativamente superior nas ovelhas suplementadas com RUP.

Num outro estudo com ovelhas leiteiras em pastoreio de azevém, iniciado após o 60º dia de lactação, Wilkinson et al. (2000) testaram seis alimentos concentrados isoenergéticos que forneceram três níveis de RDP (149, 126 ou 103 g.kg MS-1) e dois de RUP digestível (70 ou 45 g.kg MS-1) e em que a PB total dos tratamentos variou entre 247 e 180 g.kg MS-1. Os autores observaram que, com o aumento dos níveis de RDP, obtiveram uma maior quantidade de leite e das concentrações de proteína e lactose que atribuíram a um aumento da síntese de proteína microbiana e de proteína metabolizável, o que terá resultado numa maior proporção de aminoácidos que foram desaminados e utilizados como precursores para a síntese da lactose.

As vantagens produtivas da utilização de fontes proteicas de baixa degradabilidade ruminal foram evidenciadas anteriormente em ovelhas em pastoreio por Penning et al. (1988) que estudaram a resposta produtiva à suplementação proteica e obtiveram resultados positivos na produção leiteira e no ganho médio diário de borregos, ao utilizarem farinha de peixe. O mesmo foi verificado por Purroy e Jaime (1995), ao comparar duas fontes de proteína (bagaço de soja e farinha de peixe) em dietas com 20% de PB, tendo encontrado uma resposta superior nas ovelhas suplementadas com farinha de peixe.

No presente estudo, a produção leiteira, superior nas ovelhas do tratamento 21PB, mostrou a vantagem da suplementação no início da lactação com proteína de baixa degradabilidade ruminal. As concentrações séricas médias de Ureia-N para os tratamentos 21PB e 25PB, respetivamente 26,84 e 34,76 mg.dl⁻¹ são semelhantes às obtidas por Belo (2000), em que ovelhas na mesma fase da lactação, alimentadas com uma dieta à base de erva, suplementadas com milho (dieta com 20% de PB) e CGF (dieta com 24,5 % de PB), apresentaram teores semelhantes de Ureia-N, respetivamente 24,79 e 32,87 mg.dl⁻¹. A diferença nos teores de Ureia-N entre os tratamentos 21PB e 25PB, corresponde em parte à menor quantidade de MAND fornecida, mas também à proteína proveniente do CGM, uma vez que as ovelhas tiveram níveis de ingestão de erva muito semelhantes. Também a variação diurna entre os tratamentos é indicativa, pois, enquanto no tratamento 21PB as concentrações de Ureia-N às 24:00 e às 8:00h do dia seguinte foram

semelhantes (23,61 e 24,62 mg.dl⁻¹, respetivamente), no tratamento 25PB aumentaram nesse período, de 29,80 para 34,67 mg dl⁻¹

Se, simultaneamente com aqueles valores se considerarem os teores séricos médios da PT para as ovelhas em 17PB, 21PB e 25PB, respetivamente 70,88 g.l-1, 74,04 g.l-1 e 77,40 g.l-1, verifica-se a influência do fornecimento de CGM. Enquanto a passagem da dieta com 17PB para a dieta contendo 21PB originou um aumento de ingestão e de produção leiteira, o aumento do nível de CGM de 21PB para 25PB conduziu a um decréscimo de produção de leite. Os aumentos das concentrações de Ureia-N referem-se ao aumento da ingestão de erva e ao decréscimo da quantidade de MAND na ração, acentuada no tratamento 25PB, que não permitiu a presença de glúcidos em quantidade suficiente para a utilização do NH₃ produzido no rúmen. O aumento da concentração de Ureia-N acentuou--se nas ovelhas sob o tratamento 25PB e estará ligado ao incremento da taxa de gluconeogénese da proteína do CGM que escapou à digestão ruminal. O aumento da gluconeogénese entre os tratamentos 21PB e 25PB, originou um excesso de energia disponível que, como indicam os teores de insulina ao 39º dia de lactação, respetivamente 29,67 vs 17,16 µU.ml-1 (o 2º valor é próximo do registado para as ovelhas 17PB), pode ter sido desviada para a reposição das reservas lipídicas. Às ovelhas do grupo 25PB foi proporcionado um excesso de energia não aproveitado para a produção de leite que também foi prejudicada pelo excesso de Ureia-N que, ao ser metabolizado, teve custos energéticos que contribuíram para o decréscimo de produção observado.

A suplementação de ovelhas leiteiras conduzidas em pastoreio tem como principal condicionante o teor de proteína da pastagem, tanto maior quanto mais jovem for a erva e maior a proporção de leguminosas, fatores essenciais para promover uma maior ingestão de MS deste alimento. A suplementação deverá privilegiar o fornecimento de glúcidos de diferente degradabilidade ruminal, tentando sincronizar a disponibilidade em energia com o aumento do NH3 proveniente da degradação da proteína da erva, já que o acesso ao suplemento, contrariamente ao que ocorre com dietas completas, em ovelhas em pastoreio está frequentemente condicionado aos tempos de ordenha. A escolha do

alimento proteico de menor degradabilidade ruminal é essencial no início da lactação ou, nas fases seguintes, para as ovelhas de maior produção leiteira, ajudando a incrementar a quantidade de proteína da dieta que fica disponível para a síntese da proteína do leite ou para o apoio à gluconeogénese. Neste estudo, considerando que a RUP da erva representa 30% da sua PB (Hongerholt & Muller, 1998) e a do CGM atinge os 69% da PB do alimento (NRC, 2001), as ovelhas nas dietas 17PB e 21PB tiveram acesso a cerca de 5 e 9% de RUP na MS ingerida. Na literatura não se encontram ensaios que refiram os efeitos de concentrados com RUP em ovelhas nesta fase da lactação e conduzidas em pastoreio, mas os teores de Ureia-N indicados acima, levam-nos a pensar que, o desempenho das ovelhas do grupo 21PB poderia ter melhorado se tivessem sido utilizados glúcidos de diferente grau de solubilidade ruminal que, promovendo uma maior utilização do N proveniente da pastagem, poderia também proporcionar um decréscimo na suplementação com CGM.

CONCLUSÃO

O estudo de uma fonte proteica de menor degradabilidade ruminal visou contribuir para o conhecimento do processo metabólico, relacionado com a utilização da energia proveniente da mobilização da gordura corporal, importante no início da lactação.

A utilização de CGM na composição do suplemento na proporção inferior (78 g de MS, tratamento 21PB), conduziu a uma ingestão de erva de 72,28 g.dia-1 por kg PV0,75 e à produção de 683,1 ml de leite ordenhado.ovelha.dia-1 durante o aleitamento parcial, com os teores de 3,58%, 5,04%, 5,04% de TG, TP e TL respetivamente. Os borregos apresentaram um PV de 11,81 kg aos 42 dias de idade.

Durante as seis semanas as ovelhas do tratamento 21PB perderam 3,56 kg de PV e mobilizaram 0,25 pontos de CC, que apenas foi significativa nas primeiras três semanas de lactação.

A determinação dos teores séricos de AGNE, INS, Ureia-N e PT revelaram-se importantes para identificação dos processos metabólicos durante a fase inicial da lactação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abijaoudé, J.; Morand-Fehr, P.; Tessier, J.; Schmidely, P. & D. Sauvant, D. (2000) Influence of forage, concentrate ratio and type of starch in the diet on feeding behaviour, dietary preferences, digestion, metabolism and performance of dairy goats in mid lactation. Animal Science, vol. 71, n. 2, p. 359-368. https://doi.org/10.1017/S1357729800055211
- Avondo, M. & Cannas, A. (2001) NDF intake in lactating ewes fed at pasture. Proc. XIV Congress ASPA, Italy, p. 502-504.
- Bach, A.; Calsamiglia, S. & Stern, M. (2005) Nitrogen Metabolism in the Rumen. Journal of Dairy Science, vol. 88, sup., p. E9-E21. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)73133-7
- Bachman, K. (1992) Managing milk composition. In: Van Horn, H. & Wilcox, C. (Ed.) Large Dairy Herd Management, ISBN: 978-0963449108, p. 336-346.
- Bauman, D. & Currie, W. (1980) Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. Journal of Dairy Science, vol. 63, p. 1514-1529. https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(80)83111-0
- Bauman, D. & Elliot, J. (1983) Control of nutrient partitioning in lactating ruminants. In: Mepham, T.B. (Ed.) - Biochemistry of Lactation. Amsterdam, Elsevier Sci. Publ, ISBN: 978-0444804891, p. 437-468.
- Beever, D.; Losada, H.; Cammell, S.; Evans, R. & Haines, M. (1986) Effect of forage species and season on nutrient digestion and supply in grazing cattle. British Journal of Nutrition, vol. 56, n. 1, p. 209. https://doi.org/10.1079/BJN19860101
- Belo, A.T. (2000) Influência das reservas corporais lipídicas e da suplementação azotada na produção de leite de ovelhas alimentadas com erva. Estudo de parâmetros indicadores do metabolismo no início da lactação. Tese de Doutoramento. Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, Univ. Técnica de Lisboa. 222 p.
- Belo, C.; Marques, M.; Ribeiro, J. & Belo, A. (2019) Valor nutritivo de pastagens de regadio. Suplementação de ovelhas "Serra da Estrela" em pastoreio, produtividade e interpretação metabólica dos resultados. Revista de Ciências Agrárias, vol. 42, n. 2, p. 314-331. https://doi.org/10.19084/rca.17181
- Berzaghi, P.; Herbein, J. & Polan, C. (1996) Intake, site, and extent of nutrient digestion of lactating cows grazing pasture. Journal of Dairy Science, vol. 79, p. 1581–1589. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76520-7
- Bines, J. & Hart, I. (1981) Metabolic limits to milk production, especially roles of growth hormone and insulin. Journal of Dairy Science, vol. 65, p. 1375-1389. https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302(82)82358-8
- Bobe, G.; Sonon, R.N.; Ametaj, B.N.; Young, J.W. & Beitz, D.C. (2003). Metabolic responses of lactating dairy cows to single and multiple subcutaneous injections of glucagon. Journal of Dairy Science, vol. 86, n. 6, p. 2072-2081. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73796-5
- Botts, R.L.; Hemken, R.W. & Bull, L.S. (1979) Protein reserves in the lactating dairy cow. Journal of Dairy Science, vol. 62, p. 433-440. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(79)83263-4
- Broderick, G.; Mertens, D. & Simons, R. (2002) Efficacy of carbohydrate sources for milk production by cows fed diets based on alfalfa silage. Journal of Dairy Science, vol. 85, p. 1767–1776. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74251-3
- Caldas, S.; Zeoula, L., & Kazama, R. (2007) Proteína degradável no rúmen associada a fontes de amido de alta ou baixa degradabilidade: digestibilidade in vitro e desempenho de novilhos em crescimento. Revista Brasileira de Zootecnia, vol. 36, n. 2, p. 452-460. https://doi.org/10.1590/S1516-35982007000200024
- Cannas, A. (2004) Feeding of lactating ewes. In: Pulina, R. & Bencini, R. (Ed.) Dairy Sheep Nutrition. USA, CABI Publishing, ISBN: 9780851996813, p.79-108.
- Cannas, A.; Pes, A.; Mancuso, R.; Vodret, B. & Nudda, A. (1998) Effect of dietary energy and protein concentration on the concentration of milk urea nitrogen in dairy ewes. Journal of Dairy Science, vol. 81, p. 499-508. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75602-4
- Geenty, K. & Sykes, A.R. (1986) A note on the estimation of milk production in sheep. Animal Production, vol. 43, n. 1, p. 171-174. https://doi.org/10.1017/S0003356100018468
- Giger-Reverdin, S. & Sauvant, D. (1991) Evaluation and utilization of concentrates in goats. In: Goat nutrition. Wageningen, EAAP Publications, ISSN 0071-2477, p.172-183.

- offman, K.; Muller, L.; Fales, S. & Holden, L. (1993) Quality evaluation and concentrate supplementation of rotational pasture grazed by lactating cows. Journal of Dairy Science, vol. 76, p. 2651-2663. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77601-8
- Hongerholt, D. & Muller, L. (1998) Supplementation of rumen-undegradable protein to the diets of early lactation Holstein cows on grass pasture. Journal of Dairy Science, vol. 81, p. 2204–2214. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75799-6
- Hyvarinen, A. & Nikkila, E. (1962) Specific determination of blood glucose with O-Toluidine. Clinica Chimica Acta, vol. 7, n. 1, p. 140-143. https://doi.org/10.1016/0009-8981(62)90133-x
- Laarveld, B.; Christensen, D. & Brockman, R. (1981) The effect of insulin on net metabolism of glucose and amino acids by the bovine mammary gland. Endocrinology vol. 108, n. 6, p. 2217-2221. https://doi.org/10.1210/endo-108-6-2217
- Law, R.; Young, F.; Patterson, D.; Kilpatrick, D.; Wylie, A. & Mayne, C. (2009) Effect of dietary protein content on animal production and blood metabolites of dairy cows during lactation. Journal of Dairy Science, vol. 92, n. 3, p. 1001–1012. https://doi.org/10.3168/jds.2008-1155
- McCormick, M.; French, D.; Brown, T.; Cuomo, G.; Chapa, A.; Fernandez, J.; Beatty, J. & Blouin, D. (1999) - Crude protein and rumen undegradable protein effects on reproduction and lactation performance of Holstein cows. Journal of Dairy Science, vol. 82, p. 2697–2708. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75526-8
- McCormick, M.; Ward, J.; Redfearn, D.; French, D.; Blouin, D.; Chapa, A. & Fernandez, J. (2001) Supplemental Dietary Protein for Grazing Dairy Cows: Effect on Pasture Intake and Lactation Performance. Journal of Dairy Science, vol. 84, p. 896–907. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74547-X
- Metcalf, J. & Weekes, T. (1990) Effect of plane of nutrition on insulin sensitivity during lactation in the ewe. Journal of Dairy Research, vol. 57, n. 4, p. 465-478. https://doi.org/10.1017/s0022029900029514
- Mikolayunas, C.; Thomas, D.; Armentano, L. & Berger, Y. (2011) Effect of rumen-undegradable protein supplementation and fresh forage composition on nitrogen utilization of dairy ewes. Journal of Dairy Science, vol. 94, n. 1, p. 416-425. https://doi.org/10.3168/jds.2010-3656
- Mikolayunas-Sandrock, C.; Armentano, L.; Thomas, D. & Berger, Y. (2009) Effect of protein degradability on milk production of dairy ewes. Journal of Dairy Science, vol. 92, p. 4507-4513. https://doi.org/10.3168/jds.2008-1983
- Mould, F. & Ørskov, E. (1983) Manipulation of rumen fluid pH and its influence on cellulolysis in sacco, dry matter degradation and the rumen microflora of sheep offered either hay or concentrate. Animal Feed Science and Technology, vol. 10, n. 1, p. 1-14. https://doi.org/10.1016/0377-8401(83)90002-0
- Nocek, J. & Tamminga, S. (1991) Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. Journal of Dairy Science, vol. 74, p. 3598-3629. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78552-4
- NRC (2001) Nutrient Requirements of Dairy Cattle: 7th Revised Edition. National Research Council. Washington, DC, The National Academies Press.
- NRC (2007) Nutrient Requirements of Small Ruminants. Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. National Research Council Washington DC, The National Academies Press.
- Owens, F.; Zinn, R. & Kim, Y. (1986) Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. Journal of Animal Science, vol. 63, n. 5, p. 1634–1648. https://doi.org/10.2527/jas1986.6351634x
- Penning, P.; Orr, R., & Treacher, T. (1988) Responses of lactating ewes, offered herbage indoors and when grazing, to supplements containing differing protein concentrations. Animal Production, vol. 46, p. 403-415.
- Poore, M.; Moore, J.; Swingle, R.; Eck, T. & Brown, W. (1993) Response of lactating Holstein cows to diets varying in fiber source and ruminal starch degradability. *Journal of Dairy Science*, vol. 76, p. 2235–2243. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77560-8
- Purroy, A. & Jaime, C. (1995) The response of lactating and dry ewes to energy intake and protein source in the diet. Small Ruminant Research, vol. 17, n. 1, p. 17-24. https://doi.org/10.1016/0921-4488(95)00643-Y
- Reynal, S. & Broderick, G. (2005) Effect of Dietary Level of Rumen-Degraded Protein on Production and Nitrogen Metabolism in Lactating Dairy Cows. Journal of Dairy Science, vol. 88, n. 11, p. 4045-4064. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)73090-3

- Russel, A.; Doney, J. & Gunn, R. (1969) Subjective assessment of body fat in live sheep. Journal of Agricultural Science, vol. 72, n. 3, p. 451-454. https://doi.org/10.1017/S0021859600024874
- Sauvant, D. (1994) Modelling homeostatic and homeorhetic regulations in lactating animals. Livestock Production Science, vol. 39, n. 1, p. 105-113. https://doi.org/10.1016/0301-6226(94)90162-7
- SPOC (2023) Serra da Estrela Características Produtivas [cit.2023-01-19] https://www.ovinosecaprinos.com/serraestproducao.html
- Tamminga, S. (1996) A review on environmental impacts of nutritional strategies in ruminants. Journal of Animal Science, vol. 74, n. 12, p. 3112–3124. https://doi.org/10.2527/1996.74123112x
- Tilley, J.M. & Terry, R.A. (1961) A two-stage technique for the "in vitro" digestion of forage drops. Journal of the British Grassland Society, vol. 18, n. 2, p. 104-111. https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1963.tb00335.x
- Van Knegsel, A.; Van den Brand, H.; Graat, E., Dijkstra, J.; Jorritsma, R.; Decuypere, E.; Tamminga, S. & Kemp, B. (2007) - Dietary Energy Source in Dairy Cows in Early Lactation: Metabolites and Metabolic Hormones. Journal of Dairy Science, vol. 90, p. 1477-1485. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71633-8
- Whitelaw, F.; Milne, J., Ørskov, E. & Smith, J. (1986) The nitrogen and energy metabolism of lactating cows given abomasal infusions of casein. British Journal of Nutrition, vol. 55, n. 3, p. 537-556. https://doi.org/10.1079/BJN19860061
- Wilkinson, R.; Sinclair, L.; Powles, J. & Minter, C. (2000) Response of lactating ewes grazing grass to variations in effective rumen degradable protein and digestible undegradable protein supply from concentrate supplements. Animal Science, vol. 71, n. 2, p. 369-379. https://doi.org/10.1017/S1357729800055223