

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

GRÃOS DE CANOLA NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS
LEITEIRAS: CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E EFICIÊNCIA
DE SÍNTESE MICROBIANA

Autor: Wallacy Barbacena Rosa dos Santos
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos
Co-orientador: Prof. Dr. Luís Carlos Vinhas Ítavo

MARINGÁ
Estado do Paraná
maio – 2007

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

GRÃOS DE CANOLA NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS
LEITEIRAS: CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E EFICIÊNCIA
DE SÍNTESE MICROBIANA

Autor: Wallacy Barbacena Rosa dos Santos
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos
Co-orientador: Prof. Dr. Luís Carlos Vinhas Ítavo

"Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração Produção Animal".

MARINGÁ
Estado do Paraná
Maio – 2007

“Aprendi que o sucesso é medido não pela posição que alguém alcança na vida, mas pelos obstáculos que teve que superar enquanto tentava triunfar”

Booker T. Washington

A

DEUS pelo dom da vida, amor sem fim e pelo livre arbítrio.

Aos meus entes queridos

Gasparina Barbacena Rosa (minha vovó) e Antônio dos Reis Rosa (meu tio), exemplos de humildade, honestidade e trabalho pela família, que estiveram e estão presentes em todos os momentos de minha luta, sem o quais não estaria atingindo meus objetivos.

A

Lúzio e Luciene, meus pais, razão do meu esforço, pelo apoio incondicional, pelas orações, pela minha educação, formação e pelo exemplo de vida.

A

Minha esposa Rute Andréia Feiden Barbacena, pela amizade, amor e com certeza por estar me proporcionando uma felicidade inesplicável, que é ser pai.

A

Mateus Feiden Barbacena, que mesmo estando no ventre de sua mãe, já nos proporciona alegria e inspiração para continuar lutando pelos nossos objetivos.

DEDICO...

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos, pela orientação, pela confiança e pelo incentivo a trabalhar com a pesquisa.

À Universidade Estadual de Maringá e à Fazenda Experimental de Iguatemi, por terem viabilizado a realização do experimento e do trabalho.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro a pesquisa.

Aos Prof. Dr. Antônio Ferriani Branco e Lúcia Maria Zeoula pela atenção dispendida.

A pesquisadora Dra. Hélène Petit pela valiosa colaboração na concepção do projeto e no desdobramento dos dados.

Ao Prof. da Universidade Católica Dom Bosco, Dr Luís Carlos Vinhas Ítavo, pela co-orientação.

A Daniele Cristina da Silva pela amizade, companheirismo e ajuda sem a qual não seria possível a realização desta dissertação.

Aos meus amigos, neste momento sem denominar para não cometer injustiça, que contribuíram para a obtenção deste trabalho.

A Waldirene Rossi da Silva e Denílson dos Santos Vicentin, secretários do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

Aos meus familiares que de forma direta ou indireta sempre estiveram comigo.

Aos funcionários do Setor de Bovinocultura de Leite da FEI, Vicente Faleiros, Antônio Silvério Sobrinho, Luis Casari e demais funcionários que colaboraram na execução do experimento.

Às funcionárias do Laboratório de Análise de Alimentos pela paciência e auxílio.

Por todos àqueles que colaboraram direta ou indiretamente na realização deste sonho.

BIOGRAFIA DO AUTOR

WALLACY BARBACENA ROSA DOS SANTOS, filho de Lúzio Barbacena Rosa e Luciene Reis dos Santos Rosa, nascido em Morrinhos – Goiás, no dia 25 de setembro de 1979.

No ano de 2004, concluiu o Curso de Zootecnia na Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, na cidade de Marechal Cândido Rondon – Paraná.

Em fevereiro de 2005, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Bovinocultura de leite.

No mês de maio de 2007, submeteu-se à banca examinadora para defesa da Dissertação de Mestrado, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Bovinocultura de leite.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL	01
LITERATURA CITADA.....	06
OBJETIVO GERAL.....	09
CAPÍTULO II – GRÃOS DE CANOLA NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS: CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E EFICIÊNCIA DE SÍNTESE MICROBIANA.....	10
Resumo.....	10
Abstract.....	11
Introdução.....	12
Material e Métodos.....	13
Resultados e Discussão.....	18
Conclusões.....	27
Literatura Citada.....	27

LISTA DE TABELAS

Páginas

GRÃOS DE CANOLA NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS: CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E EFICIÊNCIA DE SÍNTESE MICROBIANA

Tabela 1a-	Composição percentual (% da MS) das dietas experimentais: grãos de canola moídos (GCM), grãos de canola extrusados (GCE), grãos de canola moídos tratados com lignosulfonato (GCML) e grãos de canola extrusados tratados com Lignosulfonato (GCEL).....	15
Tabela 1b-	Composição química (% da MS) das dietas experimentais: grãos de canola moídos (GCM), grãos de canola extrusados (GCE), grãos de canola moídos tratados com lignosulfonato (GCML) e grãos de canola extrusados tratados com Lignosulfonato (GCEL).....	17
Tabela 2-	Ingestão de nutrientes em vacas leiteiras da raça Holandesa alimentadas com grãos de canola moídos (GCM), grãos de canola extrusados (GCE), grãos de canola moídos com lignosulfonato (GCML) ou grãos de canola extrusados com lignosulfonato (GCEL).....	19
Tabela 3-	Digestão ruminal e intestinal em vacas leiteiras da raça Holandesa alimentadas com grãos de canola moídos (GCM), grãos de canola extrusados (GCE), grãos de canola moídos com lignosulfonato (GCML) ou grãos de canola extrusados com lignosulfonato (GCEL).....	21
Tabela 4-	Digestão em vacas leiteiras da raça Holandesa alimentadas com grãos de canola moídos (SCM), grãos de canola extrusados (SCE), grãos de canola moídos com lignosulfonato (SCML) ou grãos de canola extrusados com lignosulfonato (SCEL).....	23
Tabela 5-	Teores de matéria seca, orgânica, mineral e nitrogênio total das bactérias ruminal, matéria orgânica aparentemente degradável no rúmen (MOADR), matéria orgânica verdadeiramente degradável no rúmen (MOVDR) e eficiência microbiana aparente e verdadeira.....	25

RESUMO

Objetivou-se com o experimento avaliar o efeito do processamento (extrusão) dos grãos de canola e a adição de lignosulfonato sobre os parâmetros: consumo e digestibilidade dos nutrientes e eficiência de síntese microbiana. Foram utilizadas quatro vacas da raça Holandesa com peso médio de $538,03 \pm 9,98$ kg, distribuídas em um delineamento em quadrado latino com quatro períodos experimentais de 21 dias cada. Os tratamentos foram: grãos de canola moídos (GCM); grãos de canola moídos e extrusados (GCE); grãos de canola moídos e adição de lignosulfonato (GCML) e grãos de canola moídos extrusados e com lignosulfonato (GCEL). Foram determinados os consumos de matéria seca (MS) e proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), as digestibilidades aparente totais da MS, PB, matéria orgânica (MO), EE, FDN, e FDA; a digestibilidade ruminal da MS, MO, PB, EE, FDN e FDA e a digestibilidade intestinal da MS, MO, PB e EE. As bactérias ruminais foram isoladas e desta forma foram realizadas análises de seus componentes químicos: MS, MO, MM, nitrogênio total (NT), e PB. Foram determinados também parâmetros que mostram a eficiência de síntese microbiana, tais como: MO aparentemente degradada no rúmen, MO verdadeiramente degradada no rúmen e a síntese microbiana aparente e verdadeira. Vacas alimentadas com grãos de canola moído, extrusado ou não, com ou sem adição de lignosulfonato não diferiram quanto ao consumo de nutrientes. A digestibilidade aparente total dos nutrientes, exceto para MO, também não sofreu efeito dos tratamentos, apresentando a dieta GCM a maior digestibilidade, para tal nutriente. A digestibilidade ruminal da MS e PB foi menor para a dieta com grão de canola moído e extrusado. Entretanto, a digestibilidade intestinal dos nutrientes analisados não sofreu efeito dos tratamentos. A eficiência de síntese microbiana foi maior com animais alimentados com canola moída e extrusada. Desta forma, o processamento pelo calor, afetou a maioria dos parâmetros analisados.

Palavras-chave: produção de ruminantes, processamento de grãos, ambiente ruminal

ABSTRACT

The experiment aimed to evaluate the effect of canola seed processing (extrusion) and lignosulfonate addition on the parameters: nutrients intake and digestibility and microbial efficiency synthesis. It was used four Holstein cows with average body weight of 538.03 ± 9.98 kg allocated on a latin square design with four periods of 21 days each one. The treatments were: ground canola seed (GCSE), ground and extruded canola seed (GECS), ground canola seed with lignosulfonate (GCSL) and ground and extruded canola seed with lignosulfonate (GECL). It was determined dry matter (DM), crude protein (CP), ether extract (EE), neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) intake; DM, CP, organic matter (OM), EE, NDF and ADF total apparent digestibility; DM, OM, CP and EE ruminal digestibility; DM, OM, CP and EE intestinal digestibility. The ruminal bacteria were isolated and analysed to determine DM, OM, ash, total nitrogen and CP. It was also analysed parameters that show the microbial synthesis efficiency as: OM rumen apparently degradable OM rumen true degradable and apparent and true microbial synthesis. Nutrients intake did not differ among cows fed with ground canola seed, extruded or not, with or without lignosulfonate. Total apparent digestibility of nutrients was not affected by treatments, except OM which was increased in ground canola seed. The CP and DM ruminal digestibility decreased with ground and extruded canola seed. However, intestinal digestibility was not affected by treatments. Microbial efficiency synthesis was higher for cows fed with extruded and ground canola seed. In conclusion, the heat process affected the most part of analysed parameters.

Key-words: grain processing, ruminal environment, ruminant production.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL

A nutrição representa elevado percentual nos custos totais da produção animal, principalmente, quando se busca elevado desempenho produtivo e reprodutivo. Assim, as rações devem ser formuladas de forma a atender adequadamente às necessidades nutricionais dos animais.

Alguns autores, como Palmquist (1989) e Jenkins (1995), afirmam que teores de gordura na dieta superiores a 7% interferem negativamente na ingestão de matéria seca e na fermentação ruminal da fibra em detergente neutro (FDN). Entretanto, a suplementação com ácidos graxos insaturados, pode minimizar o efeito inibitório sobre os microrganismos celulolíticos. Byers & Schelling (1989) relataram que se a fonte de gordura adicionada à ração for proveniente de grãos oleaginosos (que são tipos de gorduras protegidas, pois possuem os lipídeos presos na matriz protéica do grão) seu uso pode minimizar os efeitos dos lipídeos sobre a fermentação ruminal, devido ao menor contato dos microrganismos com os lipídeos.

Desta forma, os grãos de oleaginosas adicionados à dieta de vacas em lactação, podem não ser o principal fator prejudicial à digestibilidade dos nutrientes (Delbecchi et al., 2001).

Segundo Byers & Schelling (1993) os mecanismos que influenciam na digestão, principalmente da fração fibrosa, é a quantidade de gordura fornecida, pois esta atua: recobrando fisicamente a fibra, causando efeito tóxico para alguns microrganismos e efeitos de superfície ativa na membrana de microrganismos.

O NRC (2001) relatou que a adição de lipídios pode limitar a digestibilidade por efeitos sobre a fermentação ruminal ou efeitos de ordem metabólica, e, Eifert et al. (2005) observaram esse efeito com diminuição do consumo de matéria seca por vacas lactantes recebendo adição de óleo de soja na ração.

Existem várias fontes de gordura que podem ser utilizadas na dieta de ruminantes. Estas se estendem desde o óleo de soja, sendo o comumente utilizado (Oliveira, 2001) até gorduras protegidas comercialmente, de origem vegetal ou animal (Hightshoe et al., 1991) além de grãos inteiros de oleaginosas (Talavera et al., 1985; Williams, 1989).

A canola (*Brassica napus* L.) recebeu este nome devido à sigla canadense *canadian oil low acid*. A canola é uma variedade geneticamente modificada da colza, diferenciando-se desta por conter uma porcentagem inferior em ácido erúico e glicosinolato, do total de ácidos graxos. Além disso, a sua produção é favorecida por ser uma cultura de inverno, não competindo com as culturas tradicionais de verão, como a soja e o milho. Canola em grão é considerada um alimento protéico, de 23 a 25,5% de proteína bruta na MS (Andrade, 1994; Bett et al., 1999), mas possui também altos teores de óleo variando de 30 a 50% na MS (Downey, 1990; Baier & Roman, 1992).

O alto teor de proteína no grão de canola faz com esta oleaginosa seja uma ótima fonte nutricional para ruminantes, entretanto, o grão possui uma cápsula rígida, sendo esta responsável para que o mesmo seja pouco digerido, a menos, que o grão seja quebrado. Desta forma, o estudo de métodos que fracione o grão de canola é de extrema importância para maximizar o valor nutricional do grão de canola (Wang et al., 1999).

Algumas técnicas de processamento de alimentos, entre elas a moagem, a peletização e a extrusão, podem ser utilizadas para melhorar a dieta em termos de teor e aproveitamento dos nutrientes, com respostas na produção e composição do leite (Whitlock et al., 2002).

A extrusão é um processo de cozimento sob pressão, umidade e elevadas temperaturas. Vários fatores importantes podem ser providas da extrusão, dentre eles destacam-se a moagem, hidratação, mistura, tratamento térmico, gelatinização, desnaturação protéica, destruição de microrganismos e outros componentes tóxicos, expansão, alteração da textura e desidratação parcial (Chang & Wang, 1998). A tecnologia da extrusão é considerada como uma das mais promissoras tecnologias para o processamento de ingredientes, assim como de alimentos a fim de aumentar a digestibilidade dos alimentos.

A extrusão reduz a solubilidade da proteína no rúmen, aumentando o suprimento de aminoácidos do intestino delgado (Aldrich, 1997; Chouinard et al., 1997). Além disso, este processamento aumenta a degradação ruminal dos carboidratos não estruturais, reduzindo assim, a razão acetato: propionato no rúmen e diminuindo perdas com os processos de fermentação. Espera-se que a modificação do meio ruminal possa

contribuir na diminuição da biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos insaturados aumentando a sua eficiência de utilização.

Os lignosulfonatos são complexos polímeros orgânicos, derivados da lignina da madeira e classificam-se, quanto as suas propriedades, como tensoativas aniônicas solúveis em água. A lignina é o segundo maior componente da madeira, representando de 20 a 30% do seu peso seco. Ela é separada da celulose por meio de um processo de cozimento químico dos cavacos de madeira. Algumas reações químicas ocorrem no processo, dentre as quais a sulfonação e a hidrólise ácida, ocasionando a solubilidade da lignina de alguns carboidratos de baixo peso molecular, de açúcares redutores e de outros componentes menores, resultando na lixívia ou licor negro. A lixívia, contendo predominantemente lignosulfonatos, representa a matéria prima bruta que submetida a processos químicos posteriores vai dar origem a diversos produtos (Melbar, 2000). Dentre as propriedades dos lignosulfonatos, destacam-se as tenso-ativas, aglomerantes, dispersantes, emulsificantes, umectantes, sequestrantes e a de combinar-se com proteínas (Melbar, 2000). Desta forma, poderia proteger as proteínas do grão de canola da ação dos microrganismos do rúmen. Na indústria de alimentos para animais, os lignosulfonatos de cálcio e magnésio são empregados na peletização, proporcionando um aglutinante energético com excelente propriedade palatilizante (Melbar, 2000).

A análise química dos alimentos é de essencial importância para avaliação dos alimentos empregados na alimentação dos animais, entretanto, o conhecimento da quantidade de nutrientes suficiente para cada animal está atrelado a sua composição química.

Segundo Russell et al. (1992), a fermentação é característica do alimento, enquanto a passagem está relacionada ao consumo, processamento e tipo de alimento consumido e influi de modo extensivo na digestibilidade dos nutrientes para o animal, além de produzir efeitos sobre o balanço dos produtos de fermentação ruminal.

Um dos fatores determinantes para o valor nutritivo do alimento é a digestibilidade. A digestibilidade do alimento é a sua capacidade de permitir que o animal utilize, em maior ou menor escala, seus nutrientes. Essa capacidade é expressa pelo coeficiente de digestibilidade do nutriente em estudo (Coelho da Silva & Leão, 1979).

Digestibilidade ruminal é o produto do tempo de retenção do alimento no rúmen pelas características de degradação do próprio alimento (Forbes, 1995). No entanto, fatores como nível de alimentação e capacidade do rúmen causam variações no tempo

de permanência do alimento neste compartimento e, portanto, em sua digestibilidade. A digestibilidade ruminal de dietas para vacas leiteiras é reduzida com o aumento da ingestão de alimentos (Tyrrel & Moe, 1975), pois apresentam elevadas quantidades de concentrados e conseqüentemente elevada à taxa de degradação e/ou passagem.

A complexidade da digestão nos ruminantes apresenta desafios para a quantificação dos processos digestivos e absorptivos, objetivando maiores conhecimentos da fisiologia digestiva para a melhoria do arraçamento destes animais (Leão et al., 2005).

Estudos da digestão dos nutrientes são importantes para quantificar a absorção destes nos diferentes compartimentos do trato gastrintestinal, proporcionando condições mais adequadas de avaliação de dietas, bem como, maior eficiência de uso da dieta pelo animal (Van Soest, 1994).

Conhecer os locais de digestão dos nutrientes é de grande importância, pois permite calcular as quantidades que os mesmos são aparentemente absorvidos nos diferentes segmentos do tratogastrintestinal (Loor et al., 2002).

De acordo com Titgemeyer (1997) a técnica mais utilizada na determinação do fluxo de digesta do rúmen é a implantação de cânula em “T” no abomaso ou duodeno e, segundo Ahvenjärvi et al. (2000), são poucos os trabalhos existentes na literatura em que se determina o fluxo de digesta sem implantação de uma cânula pós-ruminal. A técnica para coleta de digesta omasal com implantação de uma cânula reentrante omaso-abomasal em ovinos foi publicada por Ash (1962). Punia et al. (1988) obtiveram amostras de digesta ruminal através do orifício retículo-omasal via fístula ruminal, succionando a digesta com uso de uma bomba a vácuo. A coleta de digesta omasal apresenta maiores vantagens em relação a realizada no abomaso ou no duodeno, sobretudo por ser uma técnica menos invasiva (Leão et al., 2005).

Resultados de estudos mostraram que a proteína microbiana corresponde, em média, por 59% da proteína que chega ao intestino delgado (Clarck et al., 1992), e esta pode ser estimada por meio do conhecimento da eficiência de síntese microbiana (Valadares Filho, 1995), o que denota a importância do estudo dos mecanismos de síntese protéica bacteriana e dos fatores a eles relacionados (Nocek & Russell, 1988). Dessa forma, o aumento no desempenho produtivo de ruminantes pode ser obtido através da maximização da eficiência microbiana.

A importância da proteína microbiana na nutrição de ruminantes está relacionada ao fato desta ser uma fonte de alta qualidade de aminoácidos (AAs) disponíveis para a

absorção, possuir uma digestibilidade aparente intestinal de aproximadamente 85% e um perfil de aminoácidos essenciais semelhantes àqueles do leite e dos tecidos. Além disso, seu perfil de aminoácidos parece ser relativamente constante e pouco influenciado pelas variações na dieta (Valadares Filho & Valadares, 2001).

A determinação da contribuição da proteína microbiana para os bovinos tem sido objeto de muitos estudos. Os métodos correntes para medida da quantidade de compostos nitrogenados microbianos incluem a utilização de marcadores internos, como o RNA e ácido diaminopimélico (DAPA), ou marcadores externos, como ^{15}N e ^{35}S , tornando necessária a utilização de animais fistulados no abomaso ou intestino delgado. Em consequência, há crescente interesse no desenvolvimento de técnicas não-invasivas para estimar a produção microbiana. Assim, a excreção urinária de derivados de purina (DP) pode constituir um método simples e não-invasivo, para estimar a produção microbiana no rúmen, conforme observado por Perez et al. (1996).

A excreção de derivados de purinas está diretamente relacionada com a absorção de purinas e com o conhecimento da proporção N-purina:N-total na massa microbiana (Chen & Gomes, 1992), e pode ser utilizada uma vez que a excreção endógena de derivados de purinas e a proporção quantitativa entre a excreção de derivados de purinas e a absorção de purinas tenha sido previamente determinada (Verbic et al., 1990).

A quantidade de proteína dietética não degradada no rúmen e que, portanto, chega ao intestino delgado depende da degradação ruminal. A quantificação da proteína microbiana sintetizada no rúmen como resultado da fermentação microbiana é de interesse porque há evidências de que a proteína microbiana pode ser influenciada pela dieta (Dove & Milne, 1994).

A determinação ou a estimativa do suprimento de proteína microbiana são importantes áreas de estudo na nutrição protéica dos ruminantes. Segundo Chen & Gomes (1992), a contribuição da proteína microbiana no fluxo intestinal de proteína é considerado por muitos sistemas de avaliação de modo mais ou menos constante e com base na quantidade de alimento ingerido. Usualmente a contribuição microbiana é expressa em g de N microbiano (NM) por kg de matéria orgânica digestível fermentada no rúmen (MODr), mas os dados experimentais têm mostrado que as variações são grandes (de 14 a 60 g NM.kg^{-1} MODr) (Chen & Gomes, 1992). Estas variações, segundo os mesmo autores, são devidas a influência de vários fatores relacionados a dieta e ao ambiente ruminal.

LITERATURA CITADA

- AHVENJÄVI, S.; VANHATALO, A; HUNTANEN. P. et al. Determination of retículo-rumen and whole-stomach digestion in lactating cows by omasal canal or duodenal sampling. **The British Journal of Nutrition**, v. 83, n. 1, p. 67-77, 2000.
- ALDRICH, J.B., MULLER, L.D., VARGAS, G.A. Nonstructural carbohydrate and protein effects on rumen fermentation, nutrient flow, and performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1091-1099, 1997.
- ANDRADE, A. D. **Ácidos graxos ômega – 3 em peixes, óleos de peixes e óleos vegetais comestíveis**. Maringá, PR: UEM, 1994, 67p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Maringá, 1994.
- ASH, R. W. Omasal-abomasal re-entrant cannulae for sheep. **Journal of Physiology**, v. 164, p.4, 1962.
- BAIER, A. C., ROMAN, E. S. **Informações sobre a cultura da Canola no sul do Brasil**. In: Seminário Estadual de Pesquisa de Canola, I, 1992, Cascavel: EMBRAPA/CNPT, p. 1-9. 1992.
- BETT, V.; SANTOS, G.T.; AROEIRA, L.J.M. et al. Digestibilidade *in vivo* de cordeiros alimentados com canola em grão integral em diferentes formas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, p. 808-815, 1999.
- BYERS, F.M., SCHELLING, G.T. **Lipids in ruminant nutrition**. In: CHURCH, D.C. (Ed.) *The ruminant animal: digestive physiology and nutrition*. A reston Book. p.298-312. 1989.
- BYERS, F.M.; SCHELLING, G.T. Los lipidos en la nutrición de los rumiantes. In: CHURCH, C.D. **El rumiante: fisiología y nutrición**. p. 339-356. 1993.
- CHANG, Y. K; WANG, S.S. **Advances in extrusion technology. Aquaculture/Animal feeds and foods**.: Technomic, 1998, 422p.
- CHEN, X.B.; GOMES, M.J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives- an overview of technical details**. INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT. Aberdeen, UK: Rowett Research Institute, 1992. 21p. (Occasional publication).
- CHOUINARD, P.Y.; LÉVESQUE, J.; GIRARD, V.; BRISSON, G.J. Dietary soybeans extruded at different temperatures: Milk composition and *in situ* fatty acid reactions. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.2913-2924, 1997.

- CLARCK, J.H. *et al.* Symposium:nitrogen metabolism and amino acid nutrition in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 8, p. 2304-2323, 1992.
- COELHO DA SILVA, J. F. , LEÃO M. I. **Fundamentos de nutrição de ruminantes**. Piracicaba: Ed. Livrocere, 384p. 1979.
- DELBECCHI, L.; AHNADI, C.E.; KENNELLY, J.J.; LACASSE, P. Milk fatty acid composition and mammary lipid metabolism in Holstein cows fed protected or unprotected canola seeds. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.1375-1381, 2001.
- DOVE, H.; MILNE. J.A. Digesta flow and rumen microbial protein production in ewes grazing perennial ryegrass. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.45, n.6, p.1229-1224, 1994.
- DOWNEY, R.K. **Canola: a quality brassica oilseed**, 15/07/2007, <
<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/proceedings1990/V1-211.html>.
- EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; LEÃO, M.I.; et al. Efeito da Combinação de Óleo de Soja e Monensina na Dieta sobre o Consumo de Matéria Seca e a Digestão em Vacas Lactantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.1, p.297-308, 2005.
- FORBES, J.M. **Voluntary food intake and diet selection by farm animals**. Madison: CAB Internacional, 1995. 532p.
- HIGHTSHOE, R.B.; COCHRAN, R.C.; CORAH, L.R. et al. Effects of calcium soaps of fatty acids on postpartum reproductive function in beef cows. **Journal of Animal Science**, v.69, p.4097-4103, 1991.
- JENKINS, T.C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.3851-3863, 1995.
- LEÃO, M. I., VALADARES FILHO, S. C., RENNÓ, L. N., et al. Consumo e digestibilidade totais e parciais de carboidratos totais, fibra em detergente neutro e carboidratos não-fibrosos em novilhos submetidos a três níveis de ingestão e duas metodologias de coleta de digestas abomasal e omasal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n.2, p. 670-678, 2005.
- LOOR, J.J.; HERBEIN, J.H.; JENKINS, T.C. Nutrient digestion, biohydrogenation and fatty acid profiles in blood plasma and milk fat from lactating Holstein cows fed canola oil or canolamide. **Animal Feed Science and Technology**, v.97, n.1, p.65-82, 2002.
- MELBAR. **Lignosulfonato**. 22p. São Paulo. [catálogo], 2000.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th. Rev. ed. Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 2001. 381p.
- NOCEK, J.E.; RUSSELL, J.B. Protein and energy as an integrate system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 8, p. 2070-2107, 1988.
- OLIVEIRA, S.G. **Utilização de fontes de gordura em dietas com diferentes níveis de fibra para vacas em lactação**. Piracicaba. USP, Escola de Agronomia. 2001, 88p. (Tese doutorado).
- PALMQUIST, D.L. Suplementação de lipídeos para vacas em lactação. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 6., 1989, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1989. p.11.

- PEREZ, J.F.; BALCELLS, J.; GUADA, J.A. et al. Determination of rumen microbial-nitrogen production in sheep: a comparison of urinary purine excretion with methods using ^{15}N and purine bases as markers of microbial-nitrogen entering the duodenal. **British Journal of Nutrition**, v.75, p.699-709, 1996.
- PUNIA, B. S.; LEIBHOLZ, J.; FAICHNEY, G. Effects of level of intake and urea supplementation of alkali-treated straw on protozoal and bacterial nitrogen synthesis in the rumen and partition of digestion in cattle. **American Journal Agricultural Research**, v. 39, n. 1, p. 1181-1194, 1988.
- RUSSEL, J.B.; O' CONNOR, J.D.; FOX, D.G. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I Ruminant fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3551-3561, 1992.
- TALAVERA, F.C.S., PARK, WILLIAMS, G.L. Relationships among dietary lipid intake, serum cholesterol, and ovarian function in Holstein heifers. **Journal of Animal Science**, v. 60, p.1045-1051, 1985.
- TITGEMEYER, E.C. Design and interpretation of nutrient digestion studies. **Journal of Animal Science**, v.75, n.8, p. 2235-2247, 1997.
- TYRREL, H. F.; MOE, P.W. Effect of intake on digestive efficiency. **Journal of Animal Science**, v.58, n.8, p.1151-1163, 1975.
- VALADARES FILHO, S.C. Eficiência de síntese de proteína microbiana, degradação ruminal e digestibilidade intestinal de proteína bruta em bovinos. *In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS EM RUMINANTES*, 1995, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa: Jard, 1995, p.355-388.
- VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D. Recentes avanços em proteína na nutrição de vacas leiteiras. *In: SINLEITE*, 2., 2001, Lavras. **Anais...**Lavras, DZO-UFLA, 2001. p.229-247.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. London: Comstock Publishing Associates, 1994. 476p.
- VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal Agricultural Science**, v.114, n.3, p.243-246, 1990.
- WANG Y., NOWAK G., CULLEY D., HADWIGER L.A. FRISTENSKY B. Constitutive expression of pea defense gene DRR206 confers resistance to blackleg (*Leptosphaeria maculans*) disease in transgenic canola (*Brassica napus*). **Mol. Plant-Microbe Interact**. 12: 410-418. 1999.
- WHITLOCK, L.A., SCHINGOETHE, D.J., HIPPEN, A.R. et al. Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.234-243, 2002.
- WILLIAMS, G.L. Modulation of luteal activity in postpartum beef cows through changes in dietary lipid. **Journal of Animal Science**, v. 67, p.785-793, 1989.

OBJETIVO GERAL

O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito do processamento (extrusão) dos grãos de canola com ou sem lignosulfonato para vacas em lactação sobre os parâmetros: consumo e digestibilidade dos nutrientes e eficiência de síntese microbiana.

CAPÍTULO II

Grãos de Canola na Alimentação de Vacas Leiteiras: Consumo, Digestibilidade e Eficiência de Síntese Microbiana

Resumo: Objetivando avaliar o consumo, a digestibilidade parcial e total dos nutrientes e a eficiência de síntese microbiana, grãos de canola moídos, extrusados ou não, com ou sem lignosulfonato fornecidos para vacas em lactação. Foram utilizadas quatro vacas múltíparas fistuladas no rúmen, em lactação, com peso corporal médio de $538,03 \pm 9,98$ kg, distribuídas em um delineamento em quadrado latino com quatro tratamentos e quatro períodos com período experimental de 21 dias cada. Os tratamentos foram: grãos de canola moídos (GCM); grãos de canola moídos e extrusados (GCE); grãos de canola moídos e adição de lignosulfonato (GCML) e grãos de canola moídos extrusados e com lignosulfonato (GCEL). Foi estimado o consumo e os valores de digestibilidade aparente ruminal, intestinal e total dos nutrientes; além da eficiência de síntese microbiana. Não houve efeito dos tratamentos (extrusão ou adição de lignosulfonato) sobre o consumo de nutrientes. A digestibilidade ruminal da MS e PB foi menor para a dieta com grão de canola moído e extrusado, com 27,49% e 15,07%, respectivamente. Entretanto, a digestibilidade intestinal dos nutrientes analisados não sofreram efeito dos tratamentos. Da mesma forma, apenas a digestibilidade aparente total da MO foi influenciada pelos tratamentos, com 70,24 % para a dieta que não continha lignosulfonato e grãos de canola sem extrusar. A eficiência de síntese microbiana foi maior com animais alimentados com canola moída e extrusada. Desta forma, dietas com grãos de canola moídos e extrusados, alteraram a maioria dos parâmetros analisados.

Palavras-chave: produção de ruminantes, processamento de grãos, ambiente ruminal.

Dairy Cows Fed Canola Seed: Intake, Digestibility and Microbial Efficiency Synthesis

Abstract: The experiment aimed to evaluate nutrients intake, total and partial digestibility of nutrients and microbial efficiency synthesis of lactation cows fed with ground canola seed, extruded or not, with or without lignosulfonate. It was used four multiparous cows with ruminal cannulas and average body weight of $538,03 \pm 9,98$ kg allocated in a latin square design with four treatments and four periods with 21 days each one. The treatments were: ground canola seed (GCSE), ground and extruded canola seed (GECS), ground canola seed with lignosulfonate (GCSL) and ground and extruded canola seed with lignosulfonate (GECL). It was evaluated nutrients intake, nutrients total, ruminal and intestinal apparent digestibility and microbial efficiency synthesis. There was not a treatment effect (extrusion or lignosulfonate addition) on nutrients intake. The ruminal digestibility of CP and DM was lower for ground and extruded canola seed, with 27.49% and 15.07%, respectively. However, the evaluated nutrients intestinal digestibilities were not affected by treatments. The microbial efficiency synthesis was higher with animals fed with ground and extruded canola seed. In conclusion, ground and extruded canola seed affected the most part of analysed parameters.

Key-words: grain processing, ruminal environment, ruminant production.

Introdução

A inclusão de fontes de gordura na alimentação dos animais aumenta a densidade energética da dieta. A influência desta fonte de nutrientes sobre o metabolismo do animal depende da digestibilidade, da fonte utilizada e dos efeitos da adição da gordura sobre o consumo, fermentação ruminal e da digestibilidade dos outros componentes da dieta (DePeters & Cant, 1992; Chilliard, 1993). Desta forma, a relação entre a adição de gordura e o desempenho das vacas leiteiras é muito variável devido à influência da fonte de gordura utilizada, método de processamento, quantidade de gordura e estágio de lactação do animal (Palmquist & Jenkins, 1980).

Canola em grão (*Brassica napus* L.) é considerado um alimento protéico, de 23% a 25,5% de proteína bruta na MS (Andrade, 1994), mas possui também altos teores de óleo de 30% a 50% (Baier & Roman, 1992).

O alto teor de proteína no grão de canola faz com esta oleaginosa seja uma ótima fonte nutricional para ruminantes, entretanto, o grão possui uma cápsula rígida, sendo esta responsável para que o mesmo seja pouco digerido, a menos, que seja quebrado. Contudo, neste caso, o grão é rapidamente degradado no rúmen. Desta forma, o estudo de métodos que fracione o grão de canola é de extrema importância para maximizar o valor nutricional do grão de canola (Wang et al., 1999).

Algumas técnicas de processamento de alimentos, entre elas a moagem, a peletização e a extrusão, podem ser utilizadas para melhorar a dieta animal, em termos de teor e aproveitamento dos nutrientes, com respostas na produção e composição do leite (Whitlock et al., 2002). A extrusão reduz a solubilidade da proteína no rúmen, aumentando o suprimento de aminoácidos ao intestino delgado (Aldrich et al., 1997; Chouinard et al., 1997), e aumenta a degradação ruminal dos carboidratos não estruturais, reduzindo assim, a razão acetato:propionato no rúmen e diminuindo perdas com os processos de fermentação (Chang & Wang, 1998).

Alguns autores (Palmquist, 1989; Jenkins, 1995) afirmaram que teores de gordura na dieta maiores que 8% interferem negativamente na fermentação ruminal, entretanto, a suplementação com ácidos graxos insaturados, como o grão de soja podem minimizar o efeito inibitório sobre os microrganismos celulolíticos. Byers & Schelling (1989) relataram que se a fonte de gordura adicionada à ração for proveniente de grãos oleaginosos, (que são um tipo de gordura protegida, possuem os lipídeos presos na

matriz protéica do grão), pode ocorrer uma redução dos efeitos dos lipídeos sobre a fermentação ruminal, devido ao menor contato dos lipídeos com os microrganismos.

Segundo Windschitl & Stern (1988), o lignosulfonato é um produto extraído do processamento da madeira e contém uma variedade de açúcares da madeira, principalmente a xilose. Este produto atua diminuindo a degradação ruminal da proteína do grão de soja, pois o produto atua protegendo a proteína verdadeira (proteína do grão), da ação dos microrganismos ruminais.

Em ruminantes, o aporte de aminoácidos no duodeno é originário da proteína microbiana sintetizada no rúmen, da proteína que não foi degradada no rúmen e da proteína endógena (Rennó et al., 2000).

A proteína microbiana constitui, geralmente, uma proporção considerável do fluxo duodenal de nitrogênio (N) aminoacídico nos ruminantes, podendo representar entre 40% a 90% dos aminoácidos que chegam ao intestino delgado (Sniffen & Robinson, 1987), atingindo 100% em determinadas situações (Stern et al., 1994; NRC, 1996), demonstrando a importância do estudo dos mecanismos de síntese protéica microbiana e dos fatores a eles relacionados (Nocek & Russel, 1988). Então, a determinação da contribuição da proteína microbiana para o animal é importante e a sua estimativa está incorporada aos sistemas de avaliação de proteína adotados em diversos países (Valadares Filho & Valadares, 2001).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do fornecimento de grãos de canola moídos, extrusados ou não, com ou sem lignosulfonato para vacas em lactação através dos parâmetros: consumo e digestibilidade total e parcial dos nutrientes e eficiência de síntese microbiana.

Material e métodos

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), pertencente à Universidade Estadual de Maringá, Brasil, no setor de Bovinocultura de Leite, no período de outubro a dezembro de 2005, sendo utilizadas quatro vacas da raça Holandesa, múltiparas, portadoras de fistula ruminal, com 62 ± 8 dias de lactação, peso corporal médio de $538,03 \pm 9,98$ kg, distribuídas em um quadrado latino, com quatro períodos de 21 dias cada, sendo 14 dias para adaptação e 7 dias para coleta dos dados.

Os animais ficaram alojados em instalações do tipo *tie stall* e receberam alimentação individualmente, duas vezes ao dia, às 8h e 16 h, imediatamente após as

ordenhas da manhã e da tarde, respectivamente. A dieta foi ajustada de forma a obter 10% de sobras diariamente.

A razão volumoso:concentrado foi 57:43, sendo que as dietas foram isoprotéicas e isolipídicas, com base no extrato etéreo, atendendo as exigências das vacas em lactação conforme preconizado pelo NRC (2001) para vacas de 510 kg produzindo 25 kg/dia de leite contendo 39 g/kg de gordura.

Foram avaliadas quatro dietas experimentais: concentrado com grãos de canola moídos + minerais e vitaminas + silagem de milho (GCM); grãos de canola extrusados (GCE); grãos de canola moídos tratados com lignosulfonato (GCML), concentrado com grãos de canola moídos tratados com 50 g/kg (MS) de lignosulfonato + minerais e vitaminas + silagem de milho; grãos de canola extrusados tratada com lignosulfonato (GCEL), concentrado com grãos de canola extrusados tratados com 50 g/kg (MS) + minerais e vitaminas + silagem de milho. As Tabelas 1a e 1b mostram a composição percentual e química (% da MS) das dietas experimentais: grãos de canola moídos (GCM), grãos de canola extrusados (GCE), grãos de canola moídos tratados com lignosulfonato (GCML) e grãos de canola extrusados tratados com Lignosulfonato (GCEL), respectivamente.

A canola utilizada no experimento foi moída em peneira de 5 mm e após a moagem cada tratamento recebeu um processamento diferenciado. O tratamento SCM foi apenas moído e fornecido aos animais. Nos tratamentos que continham lignosulfonato, este foi adicionado a canola após moagem, 5% do total de inclusão do grão, entretanto, antes da extrusão.

A extrusão foi realizada com a canola previamente moída, em extrusora MX-100 (Inbramaq), sem uma fonte externa de calor e umidade, a uma temperatura de 120°C. A velocidade de passagem foi de 550 rpm e o diâmetro do canhão foi de 9,5 mm. O tempo de residência e a média de produção foram 30 s e 800 kg/h, respectivamente.

As amostras semanais dos alimentos fornecidos e das sobras diárias foram colhidas, diretamente no cocho dos animais e armazenadas a -20°C. Foi realizado um "pool" das amostras de sobras, resultando em uma única amostra composta por animal por período. Posteriormente, essas amostras foram secas em estufa de ventilação forçada (55°C - 72h), moídas em peneira com crivo de 1 mm e analisadas para a determinação de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cinzas, segundo descrito em AOAC (1997), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) segundo metodologia descrita por Van Soest et al. (1991).

TABELA 1a. Composição percentual (% da MS) das dietas experimentais: grãos de canola moídos (GCM), grãos de canola extrusados (GCE), grãos de canola moídos tratados com lignosulfonato (GCML) e grãos de canola extrusados tratados com Lignosulfonato (GCEL).

TABLE 1a - Percentual (% of DM) composition of experimental diets: Ground canola seed (GC), Extruded canola seed (EC), Ground canola seed treated with lignosulfonato (GCL) and Extruded canola seed treated with lignosulfonato (ECL).

Alimentos <i>Feed ingredients</i>	Tratamentos <i>Treatments</i>			
	GCM <i>GCS</i>	GCE <i>ECS</i>	GCML <i>GCSL</i>	GCEL <i>ECSL</i>
Silagem de milho <i>Corn silage</i>	57,00	57,00	57,00	57,00
Milho moído <i>Cracked corn</i>	9,14	9,14	9,14	9,14
Farelo de soja <i>Soybean meal</i>	18,06	18,06	18,06	18,06
Suplemento mineral vitamínico* <i>Mineral and vitamin supplement</i>	1,82	1,82	1,82	1,82
Grãos de canola moídos <i>Ground canola seed</i>	13,98	-	-	-
Grãos de canola moídos e extrusados <i>Extruded canola seed</i>	-	13,98	-	-
Grãos de canola moídos com lignosulfonato <i>Ground canola seed with lignosulfonate</i>	-	-	13,98	-
Grãos de canola moídos extrusados com lignosulfonato <i>Extruded canola seed with lignosulfonate</i>	-	-	-	13,98

*Ca : 270 g/kg, P : 80 g/kg, S : 20 g/kg, Mg : 15 g/kg, Fe : 2200mg g/kg, Cu: 800 mg/kg, Co: 50 mg/kg, I: 60 mg/kg, Se: 40 mg/kg, Zn: 2800 mg/kg, F: 801 mg/kg, Vit. A: 216000 U.I./kg, Vit. D: 67600 U.I./kg, Vit. E: 500mg/kg.

Durante o período de coleta, de cada período experimental, foram amostrados, cerca de 500 mL de digesta omasal e 100 g de fezes, sempre às 8:00, 12:00, 16:00 e 20:00 horas, perfazendo um total de quatro amostras por animal em cada período.

A coleta de digesta omasal foi realizada por sucção através do orifício retículo-omasal, segundo técnica descrita por Leão et al. (2002). As amostras foram armazenadas em sacos plásticos, devidamente etiquetados, e congeladas a -20°C, descrito por Cecava et al. (1990).

Para a determinação dos consumos de nutrientes, diariamente foram registrados quantidade de alimento oferecido e sobras. Para estimação da excreção fecal diária empregou-se como indicador interno a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), determinada nas amostras do fornecido, sobras, digesta omasal e compostas fecais por intermédio de procedimento de digestibilidade *in situ* por 144 h descrita em Cochran et al. (1986), seguindo as equações:

$$EF = \frac{CFDNi}{FDNif}$$

$$CFDNi = FDNiof - FDNis$$

Em que: EF = excreção fecal (kg/dia); CFDNi = consumo de fibra em detergente neutro indigestível (kg); FDNif = fibra em detergente neutro indigestível das fezes (kg/kg); FDNiof = fibra em detergente neutro indigestível do oferecido (kg); FDNis = fibra em detergente neutro indigestível das sobras (kg).

A percentagem de NDT dos tratamentos foi determinada pela equação descrita por Sniffen et al. (1992):

$$\%NDT = \%PBD + \%FDND + \%CNED + (\%EED \times 2,25)$$

onde:

NDT = nutrientes digestíveis totais; PBD = proteína bruta digestível; FDND = fibra em detergente neutro digestível; CNED = carboidratos não estruturais digestíveis; EED = extrato etéreo digestível.

sendo:

$$CNED = 100 - (PBD + FDND + EED + Cinzas) \text{ (Sniffen et al., 1992).}$$

No último dia de cada período foi realizado coleta de conteúdo ruminal, por meio da fístula, onde inicialmente foi promovida a homogeneização manual do material, e em seguida a colheita. Essa colheita foi realizada em vários locais diferentes do rúmen, objetivando coletar amostras significativas. Em cada colheita uma amostra de 1,5 kg de conteúdo ruminal foi misturada a 500 mL de solução de NaCl, homogeneizada em liquidificador e filtrado com gaze dobrada quatro vezes, e o filtrado foi armazenado em freezer a -20°C, de acordo com Cecava et al. (1990), para posterior análises de eficiência de síntese microbiana descrita por Ushida et al. (1985).

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando-se o procedimento MIXED do SAS (2003), com arranjo dos tratamentos em fatorial 2 x 2. Os dados foram analisados usando um delineamento em quadrado latino 4 x 4.

TABELA 1b. Composição química (% da MS) das dietas experimentais: grãos de canola moídos (GCM), grãos de canola extrusados (GCE), grãos de canola moídos tratados com lignosulfonato (GCML) e grãos de canola extrusados tratados com Lignosulfonato (GCEL).

TABLE 1b - Chemical (% of DM) composition of experimental diets: Ground canola seed (GC), Extruded canola seed (EC), Ground canola seed treated with lignosulfonato (GCL) and Extruded canola seed treated with lignosulfonato (ECL).

Composição química Chemical Composition	Tratamentos Treatments				EP SE	Probabilidade Probability		
	GCM	GCE	GCML	GCEL		Extrusão	Lignosulfonato	Extrusão x Lignosulfonato
	GCS	ECS	GCSL	ECSL		Extrusion	Lignosulfonate	Extrusion x Lignosulfonate
NDT % ^a TDN %	71,64	70,39	68,68	70,66	1,35	0,72	0,34	0,26
ELL mcal/kgb NEL mcal/Kg	1,63	1,60	1,56	1,61	0,03	0,79	0,34	0,26
MS % ^c DM %	52,46	53,38	52,71	53,62	0,27	0,007	0,38	0,58
MO % OM %	92,71	92,76	92,74	92,68	0,14	0,98	0,90	0,71
PB % CP %	17,80	17,54	17,44	17,29	0,11	0,08	0,02	0,63
EE % EE %	6,65	7,71	7,29	6,97	0,26	0,19	0,83	0,03
FDN % NDF %	41,04	41,19	41,90	40,18	0,51	0,16	0,88	0,10
FDA % ADF %	24,26	24,11	24,44	24,61	0,21	0,95	0,14	0,47
CNE % NEC %	27,21	26,31	26,11	28,25	0,60	0,33	0,50	0,03
MM % MM%	7,29	7,24	7,26	7,31	0,14	0,98	0,90	0,71

^aNDT= Nutrientes digestíveis totais (TDN= total digestible nutrients); ^bELL= Energia líquida de lactação estimada através da equação: ELL (mcal/kg) = 0,0245 x %NDT - 0,12 (NRC, 2001) (NEL= Net energy lactation estimated by equation: NEL (mcal/kg) = 0,0245 x %TDN - 0,12 (NRC, 2001).

^cMS= Matéria seca (DM= dry matter), MO= Matéria Orgânica (OM= Organic matter), PB= proteína bruta (CP= crude protein), EE= extrato etéreo (EE= ether extract), FDN= fibra em detergente neutro (NDF= neutral detergent fiber), FDA= fibra em detergente ácido (ADF= acid detergent fiber), CNE= Carboidratos não-estruturais, CNE= 100 - (PB+EE+FDN+Cinzas) ((NEC= non-structural carbohydrates).

A soma dos tratamentos do quadrado latino foi fracionada para fornecer os contrastes ortogonais e comparadas: com e sem lignosulfonato, com e sem extrusão ($P < 0,05$). O modelo utilizado foi:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + P_j + A_k + e_{ijkl}$$

em que: Y_{ijkl} = observação referente à repetição l , do animal k , para o tratamento i , no período j ; μ = média geral; T_i = efeito do tratamento i (GCM, GCE, GCML e GCEL); P_j = efeito do período j (1 à 4); A_k = efeito do animal l (1 à 4); e_{ijkl} = erro aleatório associado a cada observação l , que recebeu o tratamento i no período j .

Resultados e discussão

Os resultados médios de ingestão de nutrientes da dieta podem ser observados na Tabela 2.

Os animais alimentados com os tratamentos GCM, GCE, GCML e GCEL, não apresentaram diferenças ($P > 0,05$) na ingestão em kg/dia de MS, PB, EE, FDN e FDA.

A moagem do grão de canola permite uma maior liberação de gordura no rúmen e os dados do presente experimento contradizem a afirmação de outros estudos de que o fornecimento de gordura, principalmente de grãos de oleaginosas, pode limitar o consumo pelos animais (NRC, 2001). Isto se deve ao fato de que a quantidade de gordura contida em todos os tratamentos não ultrapassou o limite que a torna negativa para a fermentação ruminal (Palmquist, 1989; Jenkins, 1995).

Neste experimento, os tratamentos com suplementação de gordura não ultrapassaram 8% de EE na MS. Além disso, o emprego da extrusão e do lignosulfonato, que são formas de proteção dos nutrientes podem ter contribuído para que não houvesse interferência no consumo dos mesmos.

Em seus estudos, Wright et al. (2005) avaliando dietas para vacas leiteiras contendo canola tratada termicamente, com e sem lignosulfonato, observaram maior ingestão de matéria seca para os animais alimentados com canola tratada com calor e com lignosulfonato. Neves et al. (2007) trabalhando com dietas contendo grão de soja extrusado e/ou com adição de lignosulfonato também não observaram efeito dos tratamentos sobre a ingestão de MS, FDA e FDN. Entretanto, houve uma tendência de redução no consumo de PB quando os animais receberam dietas contendo soja extrusada e com adição de lignosulfonato em comparação com os outros tratamentos.

TABELA 2. Ingestão de nutrientes em vacas leiteiras da raça Holandesa alimentadas com grãos de canola moídos (GCM), grãos de canola extrusados (GCE), grãos de canola moídos com lignosulfonato (GCML) ou grãos de canola extrusados com lignosulfonato (GCEL)^a.

TABLE 2 – Nutrients feed intake of Holstein cows fed with ground canola seed (GCS), extruded canola seed (ECS), ground canola seed with lignosulfonate (GCSL or extruded canola seed with lignosulfonate (ECSL)^a.

Ingestão (kg/dia) <i>Intake (kg/day)</i>	Tratamentos				EP <i>SE</i>	Probabilidade		
	<i>Treatments</i>					<i>Probability</i>		
	GCM <i>GCS</i>	GCE <i>ECS</i>	GCML <i>GCSL</i>	GCEL <i>ECSL</i>		Extrusão <i>Extrusion</i>	Lignosulfonato <i>Lignosulfonate</i>	Extrusão x Lignosulfonato <i>Extrusion x Lignosulfonate</i>
Matéria seca (kg/dia) <i>Dry matter (kg/day)</i>	14,50	14,87	14,20	14,34	0,34	0,48	0,27	0,75
Proteína bruta (kg/dia) <i>Crude protein (kg/day)</i>	2,58	2,72	2,59	2,62	0,48	0,67	0,07	0,95
Extrato etéreo (kg/dia) <i>Ether extract (kg/day)</i>	1,03	1,22	1,09	1,07	0,07	0,25	0,57	0,18
Fibra em detergente ácido (kg/dia) <i>Acid detergent fiber (kg/day)</i>	3,36	3,43	3,34	3,38	0,07	0,46	0,63	0,82
Fibra em detergente neutro (kg/dia) <i>Neutral detergent fiber (kg/day)</i>	5,67	5,87	5,71	5,39	0,23	0,81	0,39	0,30

^aMédia dos quadrados mínimos com “pool” do erro padrão (EP)

^aLeast squares means with pooled standard error (SE)

Mansfield & Stern (1994) também não observaram alteração na ingestão de MS em vacas alimentadas com soja tratada ou não com o lignosulfonato. Ainda, Khorasani & Kennely (1998) avaliaram a inclusão de vários níveis de grãos de canola tratados com Jet-Sploded[®], e observaram uma tendência de efeito quadrático para a ingestão de MS, MO, PB, FDN e FDA, entretanto, os autores observaram ingestão semelhante para os animais que receberam 14,5% de grãos de canola tratados em comparação ao tratamento controle (grãos de canola moídos). Outros autores também não observaram alteração ao suplementar vacas leiteiras com grãos de oleaginosas processadas ou não na dieta (Khorasani et al., 1991; Schingoethe & Casper, 1991; Wu et al., 1994).

Em tempo, pode-se ressaltar que alguns estudos envolvendo diferentes tratamentos térmicos de grãos de oleaginosas não demonstraram impacto sobre a ingestão de MS (Stern et al., 1985; Schingoethe et al., 1996; Chouinard et al., 1997; Tymchuck et al., 1998).

Resultados semelhantes para o parâmetro consumo de nutrientes também foram relatados por Ward et al. (2002), que ao fornecerem uma dieta controle, suplementação com grãos triturados de linhaça ou canola para vacas em lactação não relataram diferença para o consumo de matéria seca entre os tratamentos.

As médias de digestibilidade ruminal e intestinal das dietas para vacas alimentadas com GCM, GCE, GCML e GCEL, estão apresentadas na Tabela 3.

Não foi verificada diferença significativa entre os resultados de digestão ruminal (GCM, GCE, GCML e GCEL), para os coeficientes de digestibilidade da MO, EE, FDN e FDA. Entretanto, a digestibilidade ruminal da MS e PB sofreram efeito do uso do lignosulfonato e do tratamento com calor (extrusão), apresentando a dieta com canola moída e extrusada os menores valores, 27,49% e 15,07%, respectivamente. Este fato pode ser explicado devido ao processamento pelo calor, sofrido pelos grãos de canola moídos. Fato este corroborado por Mansfield & Stern (1994) que trabalhando com inclusão de lignosulfonato na dieta de vacas leiteiras, também encontraram valores inferiores para a digestibilidade ruminal da MS.

Segundo Windschitl (1988) e Mansfield & Stern (1994), o lignosulfonato atua diminuindo a degradação ruminal da proteína do grão de soja, pois o produto atua protegendo a proteína verdadeira (proteína do grão), da ação dos microrganismos ruminais. Além disso, a utilização da extrusão, neste caso, pode ter disponibilizado o óleo, liberando-o no ambiente ruminal, provocando assim, diminuição da eficiência das bactérias responsáveis pela digestão da proteína (Petit et al., 1997; Bett et al., 1999).

TABELA 3 - Digestão ruminal e intestinal em vacas leiteiras da raça Holandesa alimentadas com grãos de canola moídos (GCM), grãos de canola extrusados (GCE), grãos de canola moídos com lignosulfonato (GCML) ou grãos de canola extrusados com lignosulfonato (GCEL)^a.

TABLE 3 - Ruminal and intestinal digestion of Holstein cows fed with ground canola seed (GCS), extruded canola seed (ECS), ground canola seed with lignosulfonate (GCSL) or extruded canola seed with lignosulfonate (ECSL)^a

Digestibilidade % <i>Digestibility %</i>	Tratamentos <i>Treatments</i>				EP <i>SE</i>	Probabilidade <i>Probability</i>		
	GCM <i>GCS</i>	GCE <i>ECS</i>	GCML <i>GCSL</i>	GCEL <i>ECSL</i>		Extrusão <i>Extrusion</i>	Lignosulfonato <i>Lignosulfonate</i>	Extrusão X Lignosulfonato <i>Extrusion x Lignosulfonate</i>
Ruminal <i>Ruminal</i>								
MS <i>DM^b</i>	38,91	27,49	34,74	40,59	3,36	0,4400	0,2330	0,0425
MO <i>OM</i>	48,53	38,80	46,09	49,53	3,13	0,3538	0,2342	0,0805
PB <i>CP</i>	32,04	15,07	24,84	30,29	3,66	0,1675	0,3164	0,0223
EE <i>EE</i>	55,62	53,31	40,12	51,17	6,69	0,5380	0,2357	0,3567
FDN <i>NDF</i>	43,41	37,08	45,20	45,18	3,82	0,5896	0,1705	0,3183
FDA <i>ADF</i>	46,68	39,53	47,15	44,08	2,99	0,1391	0,4335	0,5217
Intestinal <i>Intestinal</i>								
MS <i>DM^c</i>	45,84	50,84	43,78	42,77	2,12	0,3848	0,0549	0,2075
MO <i>OM</i>	40,92	45,42	36,45	37,52	3,40	0,4458	0,1193	0,6332
PB <i>CP</i>	63,04	68,00	61,46	61,53	2,49	0,3530	0,1588	0,3654
EE <i>EE</i>	77,37	74,43	78,12	79,56	5,06	0,8868	0,5829	0,6803

^aMédia dos quadrados mínimos com “pool” do erro padrão (EP) (*Least squares means with pooled standard error (SE)*)

^bMS = matéria seca (*DM = dry matter*), MO = matéria orgânica (*OM = organic matter*), PB = proteína bruta (*CP = crude protein*), EE = extrato etéreo (*EE = ether extract*), FDN = fibra em detergente neutro (*NDF = neutral detergent fiber*), FDA = fibra em detergente ácido (*ADF = acid detergent fiber*).

Estão apresentadas as médias de digestibilidade intestinal dos nutrientes, para os tratamentos utilizados neste estudo, GCM, GCE, GCML e GCEL, na Tabela 3. Não foi observado efeito significativo do processamento (extrusão) dos grãos de canola e adição de lignosulfonato para os coeficientes de digestibilidade intestinal dos nutrientes analisados. Apesar disso, a digestibilidade intestinal da PB, para o tratamento com calor (extrusão) apresentou valores superiores aos dos demais tratamentos (68,0%). Segundo Furlan et al. (2004), a extrusão provoca mudança estrutural nas proteínas, facilitando a ação das enzimas proteolíticas, podendo aumentar sua digestibilidade no intestino dos animais não-ruminantes. Fato que também pode acontecer no intestino dos animais ruminantes.

Com base nos dados apresentados na Tabela 3 é possível observar que mesmo não sofrendo efeito significativo para os tratamentos utilizados, os valores médios de digestibilidade intestinal para os nutrientes MS, MO, PB e EE foram inferiores nos tratamentos onde foi adicionado o produto químico lignosulfonato em seguida dos tratamentos com calor. Este fato, provavelmente, é devido à adição de lignosulfonato e a extrusão serem formas de proteção contra a degradação dos nutrientes.

Para os parâmetros de digestibilidade da MS, PB, EE, FDA, FDN entre os tratamentos GCM, GCE, GCML e GCEL, não se verificou diferença entre as dietas avaliadas, conforme Tabela 4. Entretanto, a digestibilidade aparente total da MO para o GCM foi maior (70,27%) quando comparados aos demais, 67,17%; 66,58% e 68,63% para os tratamentos GCE, GCML e GCEL, respectivamente.

Neste contexto, pode-se sugerir que o lignosulfonato atua no meio ruminal, reduzindo os efeitos negativos que a concentração de EE causa na fermentação ruminal, já que tal produto não interferiu na digestibilidade de todos os nutrientes.

Khorasani et al. (1991) avaliando o efeito da utilização de semente de canola tratada com Jet-Splotted[®] não observaram diferença no coeficiente de digestibilidade da MS, MO, PB, FDN e FDA, entretanto, encontraram redução na digestibilidade do EE na dieta que continha maior concentração do produto protetor utilizado. No presente trabalho não houve diferença na digestibilidade do EE, provavelmente, devido a menor quantidade de lignosulfonato utilizado.

TABELA 4 - Digestão em vacas leiteiras da raça Holandesa alimentadas com grãos de canola moídos (SCM), grãos de canola extrusados (SCE), grãos de canola moídos com lignosulfonato (SCML) ou grãos de canola extrusados com lignosulfonato (SCEL)^a.

TABLE 4 - Digestion of Holstein cows fed with ground canola seed (GCS), extruded canola seed (ECS), ground canola seed with lignosulfonate (GCSL) or extruded canola seed with lignosulfonate (ECSL)^a

Digestibilidade %	Tratamentos				EP	Probabilidade		
	Treatments					Probability		
Digestibility %	GCM	GCE	GCML	GCEL		Extrusão	Lignosulfonato	Extrusão X Lignosulfonato
	GCS	ECS	GCSL	ECSL	SE	Extrusion	Lignosulfonate	Extrusionx Lignosulfonate
MS	67,57	64,94	63,73	66,18	1,30	0,9456	0,3580	0,0990
DM ^b								
MO	70,27	67,17	66,58	68,63	0,92	0,5932	0,2736	0,0316
OM								
PB	75,23	72,91	71,88	73,37	1,48	0,7902	0,3671	0,2466
CP								
EE	90,64	87,67	90,96	90,96	1,59	0,3931	0,4969	0,2969
EE								
FDN	46,11	42,75	43,13	44,34	3,77	0,7863	0,8604	0,5676
NDF								
FDA	47,06	42,28	45,96	45,96	1,98	0,6845	0,9040	0,0626
ADF								

^aMS= matéria seca (DM= dry matter), MO= matéria orgânica (OM= organic matter), PB= proteína bruta (CP= crude protein), EE= extrato etéreo (EE= ether extract), FDN= fibra em detergente neutro (NDF= neutral detergent fiber), FDA= fibra em detergente ácido (ADF= acid detergent fiber).

Bett et al. (1999) trabalhando com cordeiros castrados, utilizando grão de canola integral, grão de canola quebrado e grão de canola peletizado (tratado com calor), não observaram diferenças entre os tratamentos para os coeficientes de digestibilidade da MS e PB, os mesmos autores encontraram resultados semelhantes aos encontrados neste experimento, para o tratamento com calor.

A composição química das bactérias isoladas no rúmen encontra-se na Tabela 5. Não houve efeito ($P>0,05$) dos tratamentos utilizados (GCM, GCE, GCML e GCEL), sobre a composição química das bactérias ruminais isoladas.

Segundo Russel et al. (1992), a composição química das bactérias ruminais pode ser influenciada por diversos fatores tais como alterações na taxa de crescimento, na fase de crescimento e nos meios de crescimento.

O teor médio de MS observado para as bactérias ruminais isoladas em todos os tratamentos foi de 90,26%, valor próximo ao observado por Valadares Filho (1995) que trabalhando com a eficiência da síntese de proteína microbiana, encontrou valores médios de 89,2%.

O teor médio de MO das bactérias ruminais isoladas obtido neste estudo foi de aproximadamente 81% na MS, este valor está relativamente próximo à média observada por Valadares Filho (1995) que foi de 84,6%, porém, está distante do valor encontrado por Valadares Filho et al. (1997) de 89,13%.

O teor médio de MO das bactérias ruminais isoladas obtido neste estudo foi de aproximadamente 81% na MS, este valor está relativamente próximo à média observada por Valadares Filho (1995) que foi de 84,6%, porém, está distante do valor encontrado por Valadares Filho et al. (1997) de 89,13%.

Segundo Valadares Filho (1995) têm-se encontrado grande variação para os teores de MO, pois possivelmente, a contaminação com solução salina, durante o processo de isolamento das bactérias, seja responsável pela grande oscilação encontrada. Fato este, que também pode influenciar na matéria mineral (Zeoula et al., 2002).

Quanto ao teor de N bacteriano (NT), os valores obtidos variaram de 6,5% a 6,97%, valores estes que se encontram dentro da faixa de variação citada por Valadares Filho (1995), que é de 5,2% a 8,7%, e da faixa citada por Van Soest (1994), de 5,0% a 12,4%.

Tabela 5. Teores de matéria seca, orgânica, mineral e nitrogênio total das bactérias ruminal, matéria orgânica aparentemente degradável no rúmen (MOADR), matéria orgânica verdadeiramente degradável no rúmen (MOVDR) e eficiência microbiana aparente e verdadeira

Table. 5. Values of dry matter, organic, mineral and total nitrogen of ruminal bacteria, organic matter apparently degradable in the rumen, organic matter truly degradable in the rumen and microbial efficiency apparent and truly

Variáveis <i>Variables</i>	Tratamentos <i>Treatments</i>					Probabilidade <i>Probability</i>		
	GCM ^a <i>GCS</i>	GCE <i>ECS</i>	GCML <i>GCSL</i>	GCEL <i>ECSL</i>	EP ^b <i>SE</i>	Extrusão <i>Extrusion</i>	Lignosulfonato <i>Lignosulfonate</i>	Extrusão x Lignosulfonato <i>Extrusion X Lignosulfonate</i>
Matéria seca % <i>Dry matter %</i>	89,79	90,62	90,15	90,48	0,47	0,26	0,81	0,61
Matéria orgânica % <i>Organic matter %</i>	80,87	81,63	81,18	82,07	0,89	0,39	0,69	0,94
Matéria mineral % <i>Mineral matter%</i>	19,12	18,36	18,81	17,92	0,89	0,39	0,69	0,94
Nitrogênio total % <i>Total nitrogen %</i>	6,97	6,52	6,50	6,53	0,21	0,35	0,31	0,29
Matéria orgânica degradada no rúmen <i>Organic matter degradable in the rumen</i>								
MOADR ¹ (g/dia) <i>AOMRD (g/day)</i>	6607,81	5452,09	5975,25	6572,66	523,20	0,6126	0,6574	0,1449
MOADR (% do ingerido) <i>AOMRD (% of intake)</i>	48,53	38,80	46,09	49,53	3,1346	0,3538	0,2342	0,0805
MOVDR ² (g/dia) <i>TOMRD (g/day)</i>	8437,76	8757,93	8338,94	8837,62	709,53	0,5849	0,9897	0,9040
MOVDR (% do ingerido) <i>TOMRD (% of intake)</i>	62,27	63,04	63,83	66,49	4,3006	0,7044	0,5814	0,8333
Eficiência de síntese microbiana <i>Microbial efficiency synthesis</i>								
gN-Mic/kg MOADR <i>gN-Mic/Kg AOMRD</i>	25,21	51,26	32,65	27,39	4,4942	0,0601	0,1173	0,0131
gN-Mic/kg MOVDR <i>gN-Mic/Kg TOMRD</i>	19,30	30,74	22,78	19,00	2,1725	0,1279	0,1059	0,0128

^aGrãos de canola moídos (GCM), grãos de canola extrusados (GCE), grãos de canola moídos com lignosulfonato (GCML) ou grãos de canola extrusados com lignosulfonato (GCEL); ^aground canola seed (GCS), extruded canola seed (ECS), ground canola seed with lignosulfonate (GCSL) or extruded canola seed with lignosulfonate (ECSL)

^bMédia dos quadrados mínimos com "pool" do erro padrão (EP) (*Least squares means with pooled standard error (SE)*).

¹MOADR – material orgânica aparentemente degradada no rúmen (*organic matter apparently degradable in the rumen*); ²MOVDR – material orgânica verdadeiramente degradada no rúmen (*organic matter truly degradable in the rumen*).

Os valores médios de matéria orgânica aparentemente degradável no rúmen (MOADR), matéria orgânica verdadeiramente degradável no rúmen (MOVDR) e eficiência microbiana aparente e verdadeira estão demonstrados na Tabela 5.

De acordo com os resultados obtidos na Tabela 5, observa-se que não houve efeito significativo para os valores de matéria orgânica aparentemente degradada no rúmen (MOADR), tanto para os valores expressos em g/dia, quanto os apresentados em relação ao ingerido. O mesmo comportamento pode ser notado para a matéria orgânica verdadeiramente degradada no rúmen (MOVDR).

Para os valores de síntese microbiana, tanto aparente como verdadeira, foi encontrado efeito significativo dos tratamentos, podendo-se notar superioridade para o tratamento com calor (extrusão).

Observa-se que a síntese microbiana em gN-Mic/kg MOADR foi 51,26 para o tratamento GCE, sendo este o maior valor apresentado entre os demais. Para a dieta experimental GCM, o valor encontrado de síntese microbiana em gN-Mic/kg MOADR foi de 25,21, sendo este o menor valor obtido.

Dentre os valores médios encontrados para síntese microbiana das dietas utilizadas, apenas a dieta GCM apresentou valor superior aos encontrados na literatura. Pois, segundo Carvalho et al. (1997) e Valadares Filho et al. (1997), os valores de tal parâmetro variam de 30,02 a 36,9 gN-Mic/kg MOADR. Ítavo et al., 2002, encontraram valores médios iguais a 45,91 gN-Mic/kg MOADR.

A síntese microbiana em gN-Mic/kg MOVDR apresentou comportamento similar a síntese microbiana gN-Mic/kg MOADR, onde os valores podem ser observados na Tabela 5. Os valores obtidos estão de acordo com os obtidos por Guimarães et al. (2001) e Fregadolli et al. (2001) variando de 20,80 a 33,1 gN-Mic/kg MOVDR, que também trabalharam com vacas leiteiras recebendo dieta com proporção volumoso:concentrado similares a este trabalho.

Desta forma, a síntese microbiana, para o tratamento GCE, mostrou valores superiores aos encontrados na literatura. Este resultado pode ser explicado, devido ao fato de que a dieta em questão sofreu tratamento térmico (extrusão). Esta técnica por sua vez, segundo Scherer (2006) e Neves et al. (2007) promove maior disponibilidade dos nutrientes aos animais. Neste caso, a liberação de óleo devido a extrusão, pode ter interferido na quantidade de protozoários do rúmen, sendo estes alimentados por bactérias. Desta forma, havendo diminuição de protozoários, provavelmente houve aumento na quantidade de bactérias que por consequência, podem ter convertido o

nitrogênio total em proteína de origem microbiana, sendo esta de fundamental importância para os animais ruminantes.

Conclusões

A utilização de lignosulfonato e a extrusão não afetaram o consumo de nutrientes e da digestibilidade intestinal. Porém, a digestibilidade ruminal da MS e PB foi menor para a dieta com grão de canola moído e extrusado. Além disso, a digestibilidade aparente total da MO, sofreu efeito da extrusão e da utilização do lignosulfonato. A eficiência de síntese microbiana foi maior com animais alimentados com canola moída e extrusada.

Literatura citada

- ALDRICH, J.B., MULLER, L.D., VARGAS, G.A. Nonstructural carbohydrate and protein effects on rumen fermentation, nutrient flow, and performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1091, 1997.
- ANDRADE, A. D. **Ácidos graxos ômega – 3 em peixes, óleos de peixes e óleos vegetais comestíveis**. Maringá, PR: UEM, 1994, 67p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Maringá, 1994.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. 16 ed. Gaithersburg: AOAC, 1997.
- BAIER, A. C., ROMAN, E. S. **Informações sobre a cultura da Canola no sul do Brasil**. In: Seminário Estadual de Pesquisa de Canola, I, 1992, Cascavel: EMBRAPA/CNPT, 1992. p. 1-9.
- BETT, V.; SANTOS, G.T.; AROEIRA, L.J.M. et al. Digestibilidade *in vivo* de cordeiros alimentados com canola em grão integral em diferentes formas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, p. 808-815, 1999.
- CARVALHO, R.C., VALADARES FILHO, S.C., SILVA, J.F.C. et al. Níveis de concentrado em dietas de zebuínos. 2. coeficiente de digestibilidade aparentes parciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.5, p.996-1006, 1997.
- BYERS, F.M., SCHELLING, G.T. **Lipids in ruminant nutrition**. In: CHURCH, D.C. (Ed.) *The ruminant animal: digestive physiology and nutrition.*: A reston Book. 1989. p.298-312.
- CECAVA, M. J.; MERCHEN, N. R.; GAY, L. C. E BERGER, L. L. Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feed frequency, and isolation techniques. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.12, p.2480-2490, 1990.
- CHANG, Y. K; WANG, S.S. Advances in extrusion technology. *Aquaculture/Animal feeds and foods*. **Technomic**, 1998, 422p.

- CHILLIARD, Y. Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs and rodent. **Journal of Dairy Science**, review, v.76, p.3897-3931, 1993.
- CHOUNARD, P.Y.; LÉVESQUE, J.; GIRARD, V.; BRISSON, G.J. Dietary soybeans extruded at different temperatures: Milk composition and in situ fatty acid reactions. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.2913-2924, 1997.
- CHOUNARD, P.Y.; LÉVESQUE, J.; GIRARD, V.; BRISSON, G.J. Performance and profiles of milk fatty acids of cows fed full fat, heat-treated soybeans using various processing methods. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.334-342, 1997.
- COCHRAN, R. C. ALDAMS, D. C., WALACE, J. D. et al. Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. **Journal of Animal Science**, v. 63, p. 1476-1483, 1986.
- DEPETERS, E.J., CANT, J.P. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. **Journal of Dairy Science**, review, v.75, p.2043-2070, 1992.
- FREGADOLLI, F.L., ZEOULA, L.M., BRANCO, A.F., et al. Efeitos das fontes de amido e nitrogênio de diferentes degradabilidades ruminais. 2. pH, concentração de amônia no líquido ruminal e eficiência de síntese microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3, p.870-879, 2001.
- FURLAN, A. C.; MONTEIRO, R. T.; SCAPINELLO, C. et al. Avaliação nutricional do triticale extrusado ou não para coelhos em crescimento. **Acta Scientiarum**. v. 26, n.1, p. 49-55, 2004.
- GUIMARÃES, K.C., BRANCO, A.F., ZEOULA, L.Z., et al. Efeito do período experimental sobre a fermentação e eficiência de síntese microbiana em bovinos alimentados com dietas com dois níveis de volumosos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3, p.880-887, 2001.
- ÍTAVO, L. C. V.; VALADARES FILHO, S. C.; SILVA, F. F. et al. Produção Microbiana e Parâmetros Ruminais de Novilhos Alimentados com Dietas Contendo Vários Níveis de Concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 3(supl.), p. 1553-1561, 2002.
- JENKINS, T.C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.3851-3863, 1995.
- KHORASANI, G.R; ROBINSON, P.H; BOER, G;; KENNELLY, J.J. Influence of canola fat on yield, fat percentage, fatty acid profile, and nitrogen fractions in Holstein milk. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.1904-1911, 1991.
- KHORASANI, G.R; KENNELLY, J.J. Effect of Added dietary fat on performance, rumen characteristics, and plasma metabolites of midlactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.2459-2468, 1998.
- LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; AZEVEDO, J.A.G. et al. Técnica de coleta de digesta omasal para estudos de digestão parcial em bovinos. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39. Recife, 2002. **Anais...** Recife: SBZ, 2002. CD ROM. Nutrição de ruminantes.
- MANSFIELD, H.R E STERN, M.D. Effects of soybean hulls and lignosulfonate-treated soybean meal on ruminal fermentation in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.1070-1083, 1994.

- NATIONAL RESEARCH COUNCIL-NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**, Washington, D.C.: National Academy Press, 1996. 242p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th. Rev. ed. Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 2001. 381p..
- NEVES, C.A.; SANTOS, G.T.; MATSUCHITA, M. et al. Intake, whole tract digestibility, milk production, and milk composition of Holstein cows fed extruded soybeans treated with or without lignosulfonate. **Animal Feed Science and Technology**, v134, p.32-44, 2007.
- NOCEK, J. E.; RUSSEL, J. B. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 7, p. 2070 – 2107, 1988.
- PALMQUIST, D.L e JENKINS, T.C. Fat in lactation rations: review. **Journal of Dairy Science**, v.63, 1980.
- PALMQUIST, D.L. Suplementação de lipídeos para vacas em lactação. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 6., 1989, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1989. p.11.
- PETIT, H.V.; RIOUX, R; OUELLET, D.R. Milk production and intake of lactating cows fed raw or extruded peas. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.3377-3385, 1997.
- RENNÓ, L. N.; VALADARES, R. F. D; LEÃO, M. I.; VALADARES FILHO, S. C; et al. Estimativa da Produção de Proteína pelos Derivados de Purinas na Urina em Novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 4, p. 1223 – 1234, 2000.
- RUSSEL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX, D.G. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I. Ruminal fermentation. **Journal of Dairy Science** , v.70, n.11, p. 3551-3561, 1992.
- SAS – STATISTIC ANALYSIS SYSTEM. 2003. **User's Guide**. SAS Institute In., Cary, NC, USA. 2003.
- SCHERER, C. **Avaliação nutricional da semente de canola extrusada ou não, para leitões em fase de creche**. Maringá, PR: UEM, 2006, 35p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, 2006.
- SCHINGOETHE, D.J; CASPER, D.P. Total lactational response to added fat during early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.2617-2622, 1991.
- SCHINGOETHE, D.J; BROUK, K.D. LIGHFIELD, K.D; BAER, R.J. Lactational responses of dairy cows fed unsaturated fat from extruded soybeans or sunflower seeds. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.1244-1249, 1996.
- SNIFFEN, C. J.; ROBINSON, P. H. Microbial growth and flow as influenced by dietary manipulations. **Journal of Dairy Science**, v. 70, n. 2, p. 425 – 441, 1987.
- SNIFFEN, C.J., O'CONNOR, J.D., VAN SOEST, P.J. et al., A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.10, p.3562-3577. 1992.
- STERN, M. D.; VARGA, G. A.; CLARK, J. H. et al. Evaluation of chemical and physical properties of feeds that affect protein metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 9, p. 2762 – 2786, 1994.

- STERN, M.D; SANTOS, K.A; SATTER, L.D. Protein degradation in rumen and amino acid absorption in small intestine of lactating dairy cattle fed heat – treated whole soybeans. **Journal of Dairy Science**, v.68, p.45-56, 1985.
- TYMCHUCK, S.M; KHORASANI, G.R; KENNELLY, J.J. Effect of feeding formaldehyde and heat treated oil seed on milk yield and milk composition. **Journal of Animal Science**, v.78: 693-700, 1998.
- USHIDA, K., LASSALAS, B., JOUANY, J.P..Determination of assay parameters for RNA analysis in bacterial and duodenal samples by spectrophotometry. Influence of sample treatment and preservation. **Reproduction Nutrition Development**, 25(6):1037-1046. 1985.
- VALADARES FILHO, S.C. Eficiência de síntese de proteína microbiana, degradação ruminal e digestibilidade intestinal da proteína bruta, em bovinos. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGENCIAS NUTRICIONAIS DE RUMINANTES, 1995, **Anais...** Viçosa, Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, 1995. p.355-388.
- VALADARES, R.F.D., GONÇALVES, L.C., SAMPAIO,I,B, et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos; 3pH, amônia e eficiência microbiana, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1264-1269, 1997.
- VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D. Teores de proteína em dietas de vacas de leite. In SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE GADO DE LEITE, 2. 2001, Lavras. **Anais...**Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001.
- VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.12, p.3583-3597, 1991.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. London: Cornell University, 1994. 476p.
- WARD, A.T; WITTENBERG, K.M; PRZYBYLSKI, R. Bovine milk fatty acid profiles produced by feeding diets containing solin, flax and canola. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.10, p.1191-1196, 2002.
- WANG Y., NOWAK G., CULLEY D., HADWIGER L.A. AND FRISTENSKY B.. **Constitutive expression of pea defense gene DRR206 confers resistance to blackleg (*Leptosphaeria maculans*) disease in transgenic canola (*Brassica napus*)**. Mol.Plant-Microbe Interact. 12: 410–418, 1999.
- WINDSCHITL, P.M.; STERN, M.D. Evaluation of calcium lignosulfonate-treated soybean meal as a source of rumen- protected protein for dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.3310-3325, 1988.
- WHITLOCK, L.A., SCHINGOETHE, D.J., HIPPEN, A.R. et al. Fish oil and extruded soybeans fed en combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.234-243, 2002.
- WRIGHT, C.F.; von KEYSERLINGK, A.G.; SWIFT, M.L et al. Heat and lignosulfonate treated canola meal as a source of ruminal undegradable protein for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.238-243, 2005.

- WU, Z; HUBER, J.T; CHAN, S.C. et al. Effect of source and amount of supplemental fat on lactation and digestion in cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.1644-1651, 1994.
- ZEOULA, L. M. ; CALDAS NETO, S. F. ; BRANCO, A. F.; et al. Mandioca e resíduos das farinhas na alimentação de ruminantes: pH, cocentração de amônia e eficiência microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 03, p. 1582-1593, 2002.