



Letícia Camera Dettmer

**SUPLEMENTAÇÃO DE LEVEDURAS E ÓLEOS ESSENCIAIS NA DIETA DE
VACAS DA RAÇA HOLANDÊS NO PERÍODO DE ESTRESSE TÉRMICO**

Dissertação de Mestrado

CRUZ ALTA – RS, 2016

Letícia Camera Dettmer

**SUPLEMENTAÇÃO DE LEVEDURAS E ÓLEOS ESSENCIAIS NA DIETA DE
VACAS DA RAÇA HOLANDÊS NO PERÍODO DE ESTRESSE TÉRMICO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Desenvolvimento Rural da Universidade de Cruz Alta, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Desenvolvimento Rural.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Damián Stumpfs Diaz
Co-orientador: Prof. Dr. Giovanni Jacob Kolling

CRUZ ALTA – RS, SETEMBRO DE 2016

Universidade de Cruz Alta – UNICRUZ
Pró-reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão
Mestrado Profissional em Desenvolvimento Rural

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**SUPLEMENTAÇÃO DE LEVEDURAS E ÓLEOS ESSENCIAIS NA DIETA DE
VACAS DA RAÇA HOLANDÊS NO PERÍODO DE ESTRESSE TÉRMICO**

Elaborado por

Letícia Camera Dettmer

Como requisito para obtenção do Título de Mestre
em Desenvolvimento Rural.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Jorge Damián Stumpfs Diaz _____ UNICRUZ

Prof. Dr^a. Juliana Medianeira Machado _____ UNICRUZ

Prof. Dr. Décio Adair Rebellatto da Silva _____ UFFS

Cruz Alta, 9 de setembro de 2016.

"A melhor preparação para o amanhã é fazer o seu melhor hoje!".
H. Jackson Brown, Jr.

AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar, por sempre estar comigo e me guiando para o caminho certo.

A minha família, em especial a meus pais Mara e Sérgio pelo apoio, incentivo e amor incondicional, sem vocês com certeza não chegaria onde estou. A minha avó Iraci Petry e a minha irmã Patrícia Camera pelo afeto, auxílio e torcida para que tudo desse certo. Ao meu marido Marcos Dettmer por sempre me estender a mão quando eu precisei, por estar sempre ao meu lado e por entender os momentos em que eu estive ausente.

Ao meu orientador Jorge Diaz que sempre foi muito mais que um orientador, foi um grande amigo que a vida me deu. O admiro muito como profissional e desejo que sempre possamos estar próximos e manter firme nossa amizade.

Ao meu co-orientador Dr. Giovani Jacob Kolling pelos ensinamentos, incentivos, inspiração, colaboração, disposição, paciência, pela orientação e dedicação em me ajudar nessa dissertação, meus sinceros agradecimentos.

Agradeço ao Eng. Agrônomo Luís Otavio de Lima por ter autorizado a realização do projeto no Tambo Experimental da CCGL e também aos seus funcionários que colaboraram com a execução do projeto. Ao acadêmico de Medicina Veterinária, Maicon Weimer, pela contribuição na execução do projeto.

Aos colegas da turma pela ajuda durante o curso, em especial a minha grande amiga Raquel Lorenzoni Camera que foi uma ótima companhia no trajeto até a universidade e durante as aulas.

Enfim, a todos que de uma maneira ou de outra contribuíram para que eu pudesse concluir o curso de mestrado.

RESUMO

SUPLEMENTAÇÃO DE LEVEDURAS E ÓLEOS ESSENCIAIS NA DIETA DE VACAS DA RAÇA HOLANDÊS NO PERÍODO DE ESTRESSE TÉRMICO

Autora: Letícia Camera Dettmer
Orientador: Prof. Dr. Jorge Damián Stumpfs Diaz
Co-orientador: Prof. Dr. Giovanni Jacob Kolling

Bovinos leiteiros manejados sob alta temperatura ambiental apresentam reduções em sua produtividade. O uso de leveduras e óleos essenciais são opções nutricionais usadas para melhorar o desempenho nessas situações. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a produção e composição do leite e as variáveis fisiológicas de vacas leiteiras da raça Holandês, suplementadas com levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) e óleos essenciais microencapsulados e comparar com o grupo controle em período de estresse térmico. Trinta e três vacas da raça Holandês foram divididas em grupos por produção de leite e por estágio de lactação, sendo que sete vacas receberam 20 gramas diárias de um premix contendo levedura (*Saccharomyces cerevisiae*), Zinco, Selênio, Vitamina E e bentonita sódica (Premix20); sete vacas receberam 30 gramas do mesmo premix (Premix30); sete vacas receberam 1,5 gramas de um *blend* de óleos essenciais microencapsulados (OE1,5), seis vacas receberam 3,0 gramas do mesmo óleo essencial (OE3,0); e seis vacas não receberam nenhum dos tratamentos (controle=C). O experimento teve duração de oito semanas, onde foi mesurada a temperatura retal, frequência cardíaca e respiratória, produção de leite e composição de leite. Durante o período experimental a temperatura corporal dos animais não variou entre os tratamentos ($P > 0,05$). Os demais parâmetros avaliados foram significativamente diferentes entre os tratamentos. A frequência cardíaca, frequência respiratória encontram-se nos parâmetros normais já a temperatura corporal estava acima dos valores fisiológicos. Os animais suplementados com OE3,0 obtiveram a frequência respiratória mais alta, diferindo das médias dos animais suplementados com Premix30 e Premix20. Animais do grupo controle apresentaram maior frequência cardíaca comparada aos animais suplementados com Premix20, não diferindo dos demais tratamentos. A temperatura e a frequência cardíaca obtiveram diferença significativa entre os tratamentos relacionados com o índice de temperatura e umidade (ITU). A maior produção de leite encontrada foi dos animais que consumiram OE3,0. Em relação à composição do leite, constatou-se que o maior percentual de gordura foi encontrado no leite dos animais que consumiram Premix30 e no leite do grupo de animais do tratamento controle, não havendo diferença significativa entre eles. A lactose do leite apresentou a maior média no grupo que recebia Premix20, porém não houve diferença significativa no teor de lactose das vacas suplementadas com Premix20 e o grupo controle. A maior concentração de proteína no leite foi do grupo controle diferindo do Premix20, havendo uma diferença de 4,58% entre o grupo controle e o Premix20. Os animais consumindo Premix30 reduziram em 72,51% o índice de contagem de células somáticas (CCS) quando

comparamos a primeira à oitava semana. A inclusão de 3 gramas de óleos essenciais aumenta a produção de leite e adição do Premix30 reduz a CCS do leite, tornando-se uma alternativa de aditivo para dieta de vacas leiteiras no período de estresse térmico.

Palavras-Chave: Aditivos. Produção de leite. Composição do leite.

ABSTRACT

SUPPLEMENTATION YEAST AND ESSENTIAL OILS IN DUTCH BREED COWS DIET IN THERMAL STRESS PERIOD

Author: Letícia Camera Dettmer
Advisor: Prof. Dr. Jorge Damián Stumpfs Diaz
Co-advisor: Prof. Dr. Giovani Jacob Kolling

Dairy cows subjected to hot environments have large reductions in productivity. The use of yeast and essential oils are nutritional options used to improve performance in these situations. The objective of this research was to evaluate production and composition of the milk and physiological variables of Holstein Dairy cows supplemented with yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and microencapsulated essential oils and to compare with control group in a period of heat stress. Thirty-three Holstein cows were divided into groups according to milk production and stage of lactation, seven of which received daily 20 grams of a premix containing yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), Zinc, Selenium, Vitamin E and sodium bentonite (Premix20); seven cows received 30 grams of the same premix (Premix30); seven cows received 1,5 grams of a microencapsulated essential oils blend (OE1,5), six cows received 3 grams of the same essential oil (OE3,0); and six cows didn't received treatment (control=C). The experiment lasted for eight weeks: it was measured rectal temperature, heart and respiratory rate, milk production and milk composition. During the trial period the body temperature of the animals did not differ between treatments ($P>0,05$). Other parameters were significantly different between treatments. The cardiac rate and respiratory rate were in normal range, but the body temperature was above physiological values. The animals supplemented with OE3,0 obtained the highest respiratory rate, differing from the averages of the animals supplemented with Premix30 and Premix20. Control group animals showed higher heart rate compared to animals supplemented with Premix20, not differing from the other treatments. The temperature and heart rate had significant difference between treatments related to the temperature and humidity index (THI). The higher milk production was found of animals that consumed OE3,0. Regarding the composition of milk, it was found that the highest percentage of fat was found in the milk of animals fed Premix30 and the control treatment group of animals milk, with no significant difference between them. Lactose milk had the highest average in the group that received Premix20, but there was no significant difference in lactose content of cows supplemented with Premix20 and the control group. The highest concentration of protein in milk was the control group differing from Premix20, with a difference of 4.58% between the control group and the Premix20. Os animals consuming Premix30 decreased by 72.51% the somatic cell count index (SCC) when we bought the first to the eighth week. The addition of 3 grams of essential oils increases the production of milk and adding milk Premix30 reduces the SCC becoming an additive alternative to the diet of lactating cows in heat stress period.

Key Words: Additions. Milk production. Composition of milk.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1	Produção de leite de vacas da raça Holandês durante o experimento.....	42
Gráfico 2	Percentual de sólidos totais encontrado no leite durante o experimento.....	43
Gráfico 3	Valores de CCS do leite de vacas durante o experimento.....	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Variáveis fisiológicas e níveis de estresse térmico em vacas leiteiras.....	21
Tabela 2	Composição bromatológica da pastagem de sorgo forrageiro, silagem e concentrado fornecidos aos animais. CCGL, Cruz Alta, RS, 2016.....	37
Tabela 3	Valores médios de temperatura, frequência cardíaca, frequência respiratória de vacas Holandês em lactação. CCGL, Cruz Alta, RS, 2016.....	37
Tabela 4	Médias de produção de leite (PL), produção de leite, porcentagem de gordura, proteína, sólidos totais, lactose e CCS de vacas Holandês em lactação.....	38
Tabela 5	Temperatura do ar, ponto de orvalho e índice de temperatura e umidade (ITU).....	39
Tabela 6	Médias de produção e composição do leite de vacas Holandês em lactação durante o experimento. CCGL, Cruz Alta, RS, 2016.....	41
Tabela 7	Análise parcial do custo/benefício dos aditivos para vacas em lactação.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AGV – Ácidos Graxos Voláteis
BEN – Balanço energético negativo
bat - Batimento
bpm – Batimentos por minuto
CCGL - Cooperativa Central Gaúcha Ltda.
CCS – Contagem de células somáticas
CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais
cm – Centímetro
CMS – Consumo de matéria seca
CO₂ – Dióxido de carbono
Dr. – Doutor
Dr^a - Doutora
EE – Extrato etéreo
et al. – e outros
FC- Frequência cardíaca
FDA – Fibra detergente ácido
FDN – Fibra detergente neutro
FR – Frequência respiratória
g – Grama
HCO₃ – Bicarbonato
IMS – Ingestão de matéria seca
ITU – Índice de temperatura e umidade
kg – Quilograma
L – Litros
Lig - lignina
min – Minuto
mg – Miligrama
ml – Mililitro
MM – Matéria mineral

mov – Movimento

MS – Matéria seca

n – número

NRC National Research Council

O₂ – Oxigênio

PB – Proteína bruta

pH – Potencial Hidrogeniônico

SAS – Statistical Analysis Systems Institute

TCI – Temperatura critica inferior

TCS – Temperatura critica superior

TR – Temperatura retal

UFC – Unidade formadora de colônia

UNICRUZ – Universidade de Cruz Alta

UPF – Universidade de Passo Fundo

° C – Graus Celsius

® - Marca registrada

% - Porcentagem

mmol – Micromol

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	Objetivo geral	17
2.2	Objetivos específicos	17
3	REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1	Impacto do estresse térmico na produção de vacas leiteiras	18
3.2	Uso de leveduras na alimentação de vacas leiteiras	24
3.3	Uso de óleos essenciais na alimentação de vacas leiteiras	28
4	MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1	Local e época	33
4.2	Tratamentos e animais experimentais	33
4.4	Parâmetros avaliados	35
4.4.1	Produção de leite e composição do leite	35
4.4.2	Medidas fisiológicas	35
4.4.3	Índice de temperatura e umidade	35
4.5	Delineamento Experimental e Análises Estatísticas	36
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
6	CONCLUSÃO	48
	REFERÊNCIAS	49
	ANEXOS	59
	ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO DO CEUA	60

1 INTRODUÇÃO

A demanda por produtos seguros e de qualidade, aliada às novas políticas conservacionistas, geram um grande desafio para os pecuaristas. Além disso, a margem de lucro da atividade esta cada vez mais estreita, tornando necessária a implantação de tecnologias que garantam a qualidade dos produtos lácteos sem, no entanto, inviabilizar a atividade leiteira (MOURÃO *et al.*, 2012).

O Brasil é o quinto produtor mundial de leite, ficando à sua frente a União Europeia, Estados Unidos, Índia e China, de acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA). No entanto, no Brasil não ocorre um crescimento tão significativo na produtividade leiteira quando comparado com os Estados Unidos da América (EUA) fator que pode estar relacionado a uma maior preocupação com as condições climáticas e busca por tecnologias para minimizar os efeitos do calor que este país vem estudando há muito tempo. No ano de 1947, SEATH e MILLER já realizavam estudos em busca de alternativas para diminuir os efeitos do calor em vacas leiteiras (AIRES, 2012).

Na região sul do Brasil o clima é subtropical úmido, havendo grande variação térmica anual com invernos frios (<18°C) e verões quentes (até 33°C), sendo altamente influenciadas pela topografia. A produção leiteira tenrificada da região noroeste possuiu predominante em seus rebanhos as raças Holandês e Jersey, as quais sofrem durante os períodos do verão (dezembro a março) com as altas temperaturas, podendo haver prejuízos em sua produção e reprodução (PEGORINI, 2011).

Conforme pesquisas realizadas, o estresse térmico afeta negativamente a produtividade de vacas leiteiras, principalmente animais de alta produção. Melhoras no manejo, como adoção de sistemas de resfriamento e manipulações na dieta dos animais podem amenizar o efeito negativo do estresse térmico sobre a produtividade do animal (SALVATI, 2014). A suplementação dietética com leveduras ou óleos essenciais visa melhorar o desempenho dos animais mesmo em condições adversas, como é o caso do estresse por

calor, devido sua ação principalmente a nível ruminal, melhorando sua função e aumentando a produção de leite conseqüentemente.

A manipulação da fermentação ruminal é uma ferramenta valiosa de técnicos e nutricionistas na busca do aumento da produtividade e eficiência na utilização dos recursos usados na alimentação animal (OLIVEIRA, 2013). Os óleos essenciais, assim como as leveduras, são utilizados com intuito de manipular a fermentação ruminal e conseqüentemente aumentar a produção de leite desses animais.

O calor ocasiona redução da produtividade e da eficiência reprodutiva do gado leiteiro, dentre as quais 80% estão associadas com a produtividade do animal, quantidade e qualidade do leite, e 20% associadas a desordens de saúde (ANTUNES *et al.*, 2009), por isso, torna-se importante a realização de pesquisas com suplementos que visam minimizar os efeitos negativos do estresse térmico na produtividade animal.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Avaliar a influência da utilização de leveduras e óleos essenciais sob as variáveis fisiológicas e seu impacto na produção e composição de leite no período de estresse térmico.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar Frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal de vacas leiteiras da raça Holandês suplementadas com premix contendo levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) nas doses de 20g/dia e 30 g/dia e um *blend* de óleos essenciais microencapsulados na dose de 3g/dia e na dose de 1,5g/dia e comparar com o grupo controle em relação ao índice de temperatura e umidade (ITU).
- Avaliar a produção de leite de vacas leiteiras da raça Holandês suplementadas com premix contendo levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) nas doses de 20g/dia e 30g/dia e um *blend* de óleos essenciais microencapsulados na dose de 3g/dia e na dose de 1,5g/dia e comparar com o grupo controle;
- Quantificar a Contagem de Células Somáticas, gordura, lactose, proteína e sólidos totais do leite de vacas leiteiras da raça Holandês suplementadas com premix contendo levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) nas doses de 20g/dia e 30g/dia e um *blend* de óleos essenciais microencapsulados na dose de 3g/dia e na dose de 1,5g/dia e comparar com o grupo controle;
- Analisar a eficiência econômica do uso dos aditivos na dieta de vacas lactantes da raça holandês.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Impacto do estresse térmico na produção de vacas leiteiras

Os bovinos são animais homeotérmicos, independentemente das variações da temperatura ambiente, são capazes de manter a temperatura corporal (PERISSINOTTO *et al.*, 2006). O estresse térmico pode ser definido como a somatória de forças externas ao animal homeotérmico, desequilíbrio entre condições ambientais e animal que ocasionam alteração na temperatura corporal do animal em homeostase, ou seja, em repouso (PEGORER, 2006).

O estresse climático pode ser por frio ou por calor. Um dos principais fatores que reduz a produtividade e o desenvolvimento dos animais é o estresse por calor. Quando o animal não está em conforto térmico ele procura formas para perder calor as quais envolvem a adaptação do sistema respiratório, circulatório, excretor, endócrino e nervoso de animais criados em clima quente (DALCIN, 2013).

A zona de conforto, ou zona de termoneutralidade para os animais é limitada pela temperatura crítica superior (TCS) e temperatura crítica inferior (TCI), sendo que abaixo da TCI os animais sofrem estresse pelo frio e acima da TCS sofrem estresse pelo calor (MARTELLO, 2006).

Como a zona de neutralidade térmica varia de acordo com a taxa metabólica, as vacas leiteiras, por possuírem uma alta produção leiteira, produzem uma grande quantidade de calor metabólico fazendo com que sua zona de neutralidade térmica seja baixa: entre 4°C e 15°C (CUNNINGHAM, 2004).

A zona de termoneutralidade é uma faixa de temperatura ambiente efetiva na qual o animal não sofre estresse pelo frio ou pelo calor. Estando dentro da zona de termoneutralidade, o custo fisiológico é mínimo, a fixação de energia da dieta é máxima, a

temperatura corporal e o apetite são normais e a produção é ótima (MARTELLO, 2006), pois há pouco gasto de energia para manutenção do animal, sendo esta direcionada para produção.

Para bovinos leiteiros da raça holandês a faixa ideal encontra-se entre 4°C e 26°C (AIRES, 2012) sendo que quando a temperatura ultrapassa 34°C, independente da umidade relativa do ar, é algo considerado altamente estressante para vacas (PERISSINOTTO; MOURA, 2007).

A umidade relativa do ar possui efeito na dissipação de calor por dificultar o processo evaporativo, ocasionando também desconforto térmico. A umidade relativa do ar ideal varia de 60 a 70% sendo que valores acima disso tornam a dissipação térmica bastante prejudicada, devido à saturação de vapor d'água no ar (AIRES, 2012).

De acordo com Silva (2000) o conforto térmico dos animais depende dos níveis de umidade atmosférica em associação com a temperatura do ar. Muitos autores desenvolveram índices que permitem estimar e avaliar a intensidade de conforto ambiental para bovinos. Conforme Azevedo *et al.* (2005), a associação da umidade relativa do ar e a temperatura do ar, propicia um excelente indicador de conforto térmico, chamado Índice de Temperatura e Umidade (ITU).

O Índice de Temperatura e Umidade (ITU) pode ser calculado a partir da fórmula de Thom (1958) descrita a seguir:

$$ITU = ta + 0,36 tpo + 41,5$$

Onde:

ta: temperatura do ar (°C);

tpo: temperatura de ponto de orvalho (°C)

Conforme Pires e Campos (2004) o valor aceito para o conforto térmico é 72, número limite da zona termoneutra para vacas lactantes, acima disso o animal encontra-se em estresse pelo calor. Para Aykus *et al.* (2010) o ITU com valor 72 é considerado um estresse térmico leve para bovinos, com 79 níveis moderados e com 89 graves.

O centro termorregulador dos animais está localizado no hipotálamo e é responsável pelo controle da temperatura, sendo que as células periféricas especializadas transmitem as sensações de frio ou de calor para que o sistema nervoso central passe essas informações para o hipotálamo (CRUZ *et al.*, 2011).

O centro termorregulador identifica as variações que ocorrem no ambiente térmico, ou seja, alterações da temperatura, da umidade relativa, da velocidade do ar e da intensidade da radiação solar (DALTRO, 2014).

O ambiente físico abrange elementos meteorológicos que interferem os mecanismos de transferência de calor e, assim, por isso a regulação do balanço térmico entre o animal e o meio exerce forte influência sobre o desempenho animal (PERISSINOTTO *et al.*, 2006).

A resposta inicial de um animal exposto ao estresse pelo calor é a vasodilatação, a qual leva a um aumento do fluxo sanguíneo para pele e para os membros. O aumento da temperatura na pele e a projeção da temperatura central em direção aos membros aumentam o gradiente térmico entre a pele e o ambiente (SILVA, 2010). Se isso não for suficiente, o próximo mecanismo acionado para perda de calor é a transpiração e o depois é a respiração, sendo o aumento na frequência respiratória (FR) o primeiro sinal visível (CRUZ *et al.*, 2011).

A temperatura retal normal dos bovinos está entre 38 e 39,5°C sob condições termoneutras, sendo que valores superiores a 39,2°C indicam de estresse por calor (FERREIRA *et al.*, 2014).

A frequência respiratória quando é mantida alta por curtos períodos é considerada uma maneira eficiente para perda de calor, por isso é dos principais parâmetros fisiológicos utilizados para estimar a tolerância dos animais ao calor (MORAES, 2010). O aumento da frequência respiratória depende da intensidade e da duração que os animais estão sendo submetidos ao calor sendo 40 a 60, 60-80, 80-120 são valores que caracterizam, respectivamente, baixo, médio e alto estresse para ruminantes (DALTRO, 2014).

Altas temperaturas levam a diminuição da frequência de alimentação e consumo de água durante as horas mais quentes do dia. Animais submetidos a estresse térmico diminuem o número e a duração das refeições (CRUZ *et al.*, 2011) alterando também, conseqüentemente, a eficiência alimentar e a produção de leite.

Os fatores climáticos afetam o tempo de ruminação principalmente quando os animais estão em estresse térmico, pois durante a ruminação, que é considerada uma atividade onde ocorre um estado de relaxamento, as vacas preferem permanecer na sombra e deitadas com lateralidade esquerda para otimizar o posicionamento do rúmen (FERREIRA *et al.*, 2014).

Para Silva e Souza Júnior (2013) as vacas de alta produção nos períodos mais quentes do ano diminuem o tempo de alimentação e de ruminação aumentando assim o ócio, provavelmente para diminuir a produção de calor.

A frequência respiratória e a temperatura retal são utilizadas para identificar os animais que estão em estresse calórico. A tabela a seguir (Tabela 1), correlaciona variáveis fisiológicas (frequência respiratória e temperatura retal) com os níveis de estresse térmico.

Tabela 1. Variáveis fisiológicas e níveis de estresse térmico em vacas leiteiras

FR	TR	Níveis de estresse
23/min	38,3°C	Não há estresse nenhum.
45 a 65/min	38,4 a 38,6°C	O estresse está sob controle; o apetite, a reprodução e a produção estão normais.
70 a 75/min	39,1°C	Início do estresse térmico; menor apetite, mas a reprodução e a produção estão estáveis.
90/min	40,1°C	Estresse acentuado; cai o apetite, a produção diminui, os sinais de cio diminuem.
100 a 120/min	40,9°C	Estresse sério; grandes perdas na produção, a ingestão diminui 50% e a fertilidade pode cair para 12%.
> 120/min	> 41°C	Estresse mortal; as vacas expõem a língua e babam muito, não conseguem beber água e se alimentarem.

Fonte: Pires e Campos (2004).

O bem estar dos animais e seu desempenho produtivo sofrem alterações de acordo com as condições ambientais. Altas temperaturas do ar, principalmente quando associadas a altas umidades e intensa radiação solar são responsáveis pela diminuição na produção de leite de vacas de média e alta produção (BACCARI JUNIOR, 2001; AGUIAR *et al.*, 2003).

Essa diminuição de produção de leite deve-se, primordialmente, à redução no consumo de alimentos, à hipofunção da tireoide e à energia utilizada para eliminar o excesso de calor corporal. A diminuição do consumo de alimentos é maior quanto mais intenso é o estresse térmico, o que se deve, principalmente, à inibição, pelo calor, do centro do apetite localizado no hipotálamo (BACCARI JUNIOR, 2001).

O consumo de alimento do gado de leite começa a diminuir quando a temperatura média diária atinge 25 a 27°C o qual pode ser diminuída de 10-35% quando a temperatura ambiental atinge 35°C ou mais (BAJAGAI, 2011).

Na tentativa de gerar menos calor metabólico, o corpo do animal parece utilizar glicose em uma quantidade maior. Portanto, a glândula mamária pode não receber quantidade adequada de glicose, e, como resultado, ocorre uma menor produção de lactose e conseqüentemente a produção de leite é reduzido (BAUMGARD *et al.*, 2014) sendo este um outro mecanismo que contribui para os efeitos negativos do estresse térmico em vacas leiteiras.

Vacas de alta expressão genética para produção de leite são mais sensíveis e mais susceptíveis ao estresse térmico do que animais de menor produção, pois em condições

ambientais estressantes diminuem o consumo de alimentos, suas necessidades nutricionais não são atendidas, conseqüentemente diminuindo sua produção de leite (SILVA; SOUZA JUNIOR, 2013).

Com a redução do consumo de alimentos e aumento das exigências nutricionais para manutenção e produção do leite durante estresse térmico, as vacas entram em balanço energético negativo (BEN) em qualquer estágio de lactação, porém não na mesma proporção que o BEN que ocorre no início da lactação (SALVATI, 2014).

As vacas sujeitas ao estresse térmico correm maior risco de apresentarem acidose ruminal. Vacas com estresse térmico podem apresentar líquido ruminal de pH inferior, menos atividade de ruminação, menor porcentagem de gordura no leite e capacidade de tamponamento reduzida pela saliva (STAPLES, 2009). Com o aumento da frequência respiratória o dióxido de carbono (CO_2) é eliminado dos pulmões mais rapidamente do que é produzido, levando a queda do CO_2 sanguíneo. Para tentar manter a relação CO_2 /bicarbonato (HCO_3) constante no sangue, o rim aumenta a excreção de HCO_3 . Com mais CO_2 saindo dos pulmões e mais bicarbonato excretado pela urina, a concentração sérica de bicarbonato é reduzida, a qual poderia ser utilizada (através da saliva) para tamponar e manter o pH do rúmen saudável (BAUMGARD *et al.*, 2014).

Além disso, vacas afetadas pelo estresse calórico tende a aumentar a salivação e por consumirem menos alimentos diminuem a ruminação, atividade que estimula a produção de saliva. Este dois fatores resultam na redução da quantidade de agentes de tamponamento que entram no rúmen predispondo o animal a acidose metabólica (BAUMGARD *et al.*, 2014).

Temperaturas ambientais acima de $23,9^\circ\text{C}$ tendem a diminuir proteína, lactose e gordura do leite de bovinos. Devido ao seu envolvimento na regulação osmótica de leite, a temperatura possui maior impacto na proteína e na gordura do leite (COLLIER, 2012).

Os teores de gordura do leite diminuem quando as vacas são expostas a estresse térmico devido à variação no consumo de forrageiras pelos animais o qual provoca uma alteração na relação acetato/propionato, alterando assim a composição do leite (ABREU, 2011).

A produção de proteína de leite parece ser mais diretamente afetada pela temperatura, pois durante períodos de estresse por calor há redução da síntese de proteínas do leite. Geralmente nas regiões temperadas o teor de gordura e proteína pode diminuir, em média, do leite, respectivamente, 0,4% e 0,2% no verão, em comparação com os meses de inverno (COLLIER, 2012).

Como o estresse por calor provoca redução do consumo de matéria seca (CMS) e utilização de nutrientes em animais, a utilização de aditivos tais como óleos essenciais e leveduras tornam-se uma alternativa para minimizar a perda na produção e na qualidade do leite.

A inclusão de leveduras na dieta estabiliza ambiente ruminal, aumenta a digestão das fibras e melhora o fluxo de proteína microbiana no rúmen. Estudos sugerem que as leveduras são mais eficazes quando os animais estão sob estresse, especialmente em estresse calórico, enquanto outros confirmam apenas uma ligeira redução da temperatura corporal animais sem qualquer efeito sobre o desempenho animal (SOSSIDOU, TSIPLAKOU, ZERVAS, 2014).

Setessentos e vinte e três vacas multíparas da raça Holandês, de duas explorações leiteiras, foram aleatoriamente submetidas a uma dieta que não contém levedura ou 30g/vaca/dia de uma cultura de levedura *S. cerevisiae* alimentada entre 20 e 140 dias de lactação durante estresse térmico. Nesse trabalho as vacas alimentadas com levedura produziram 1,2kg/dia de leite, maior quantidade de proteína, sólidos não gordurosos e lactose no leite do que os animais da dieta controle. Isso indica que a suplementação com cultura de levedura melhorou o desempenho da lactação de vacas leiteiras expostas a estresse térmico, aumentando os rendimentos de leite e de sólidos não gordurosos (BRUNO *et al.*, 2009).

Shwartz *et al.* (2009), ao utilizar 10g/dia de uma cultura de leveduras em um experimento com 23 vacas da raça holandês multíparas, com 120±30 dias em lactação, não conseguiram demonstrar efeitos positivos na produção de leite frente os efeitos causados pelo estresse térmico. Já em outro estudo, com oitenta e uma vacas da raça holandês, 204±46 dias em lactação, utilizando 240, 120, ou 0 g de *Saccharomyces cerevisiae* (Diamante V) houve aumento na produção de leite quando utilizado o suplemento, sendo observados melhores resultados com 240g/vaca/dia (ZHU *et al.*, 2015).

Foram utilizadas 240 vacas holandesas sendo 132 primíparas e 108 multíparas, divididas em dois grupos iguais, as quais foram incluídas no experimento após o parto, por um período de 13 meses. O grupo controle recebeu no cocho forragem e concentrado e o grupo experimental recebeu a mesma dieta de 5g/vaca/dia de levedura *Saccharomyces cerevisiae* aumentou a produção e composição do leite, com resultados melhores nas vacas em início de lactação e durante a estação quente (MAJDOUB-MATHLOUTHI; KRAIEM; LARBIER, 2009).

Trinta e oito vacas da raça Holandês (26 multíparas e 12 primíparas), com média de 105 dias pós-parto, receberam 60g/vaca/dia de uma levedura Diamond V XP ou sem levedura durante 12 semanas concluíram que a levedura melhorou a eficiência alimentar em vacas

leiteiras durante o verão, sendo que a percentagem de gordura do leite e proteína foram semelhantes para ambas as dietas. O consumo de matéria seca e a produção de leite foram semelhantes em ambos os tratamentos (SCHINGOETHE *et al.*, 2004).

Tendo em vista que o estresse térmico afeta negativamente a produção de vacas leiteiras, o uso de óleos essenciais na dieta de bovinos tornam-se uma alternativas para minimizar os efeitos negativos que ocorrem nesse período, pois conforme estudos este aditivo possui atividade antibacteriana seletiva, inibi a emissão de metano no rúmen, aumenta a proporção de propionato no rúmen e de proteína *by pass* melhorando assim a produção de leite das vacas (REZA-YAZDI *et al.*, 2014).

Em um estudo realizado com vinte e cinco vacas da raça Holandesa, onde 12 animais pertenciam ao grupo controle e 13 animais foram alimentados com uma combinação de óleos essenciais (cimaldeido e dissulfeto dialil) na dose de 25mg/kg de concentrado na forma encapsulada constatou-se o uso de óleos essenciais na dieta de vacas leiteiras em início de lactação durante a exposição ao calor não afetaram a produção e composição do leite (SERBESTER *et al.*, 2012)

Em dois ensaios de campo consecutivos, vacas da raça Holandesa foram atribuídos a nenhum aditivo ou suplementação com capsicum, eugenol e cinamaldeído na dose de 1g/vaca/dia no periodo do verao, sendo que o priemeiro ensaio teve duracao de cinco meses e o segundo de quatro meses. O primeiro obteve um aumento na produção de leite de 6,9%, não havendo efeito sobre a gordura e a proteína do leite. No outro experimento, a produção de leite foi aumentada em 4,6%, a porcentagem de proteína do leite foi significativamente diminuída e houve melhora no índice de CCS (contagem de células somáticas), além de uma redução da mesma quando foi utilizado óleos essenciais na dieta (BLANCK *et al.*, 2014).

3.2 Uso de leveduras na alimentação de vacas leiteiras

As leveduras são fungos unicelulares, esféricos ou ovais, anaeróbicos facultativos, que se reproduzem geralmente por brotamento. A maioria dos fungos possui uma fase unicelular e outra filamentosa, alternando a forma conforme as condições ambientais. Porem, na maior parte do seu ciclo de vida, a maioria dos fungos permanece como filamentoso. No entanto, algumas espécies, como a *Saccharomyces cerevisiae* permanecem como leveduras, as quais mudam para filamentosos somente em condições ambientais muito específicas, como baixos níveis de nitrogênio (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007).

As destilarias de álcool e as cervejarias são as indústrias que fornecem leveduras para a alimentação de vacas leiteiras. Nas usinas de álcool, durante a fase de fermentação alcoólica do melaço, são utilizadas leveduras, que posteriormente são recuperadas através do processo de centrifugação. Após secagem e moagem, as leveduras podem ser então utilizadas na alimentação de vacas leiteiras como aditivos. Em média, cada litro de álcool origina doze litros de vinhaça que, por sua vez, apresenta 1% de células de *Saccharomyces cerevisiae* (TONISSI; GOES, 2004).

A definição de leveduras refere-se ao produto que foi separado do seu meio de cultura. A cultura de leveduras é o produto composto por células viáveis em seu meio de crescimento na qual se destaca particularmente a de *Saccharomyces cerevisiae* (TONISSI; GOES, 2004).

Conforme Costa (2004) a necessidade de utilização do subproduto na indústria alcooleira estimulou pesquisas onde se descobriu que estes microrganismos possuem potencial nutritivo, passando a ser intensamente pesquisados e incorporados na alimentação animal.

O uso de aditivos microbianos possui efeito benéfico sobre a produção de leite e o ganho de peso em bovinos. Nas publicações, em média, tem mostrado benefício quando utilizado leveduras na dieta de ruminantes, com aumento de ganho de peso e produção de leite em torno de 7 a 8% (BARBOSA; FARIA; VILELA, 2004).

Os efeitos positivos através da suplementação com leveduras sobre o consumo de vacas leiteiras foram geralmente acompanhados por ganho na digestibilidade de vacas leiteiras (BITENCOURT, 2008).

O rúmen apresenta um ecossistema estável, em condições normais, formado por variado grupo de microrganismos que vivem em simbiose com o animal. Esta microbiota ruminal constante é de extrema importância para que ocorra uma boa conversão de alimentos em energia (KAMRA, 2005).

Conforme Wallace e Newbond (2007) o aumento no número total de bactérias é a principal resposta da suplementação com leveduras a qual é capaz de induzir ganhos na digestão da fibra. Os números de bactérias celulolíticas são aumentados através da inclusão de leveduras na dieta, e as bactérias que utilizam o ácido lático são estimuladas pela presença de ácido dicarboxílico, sendo assim, elucidada-se em parte o aumento da quebra das fibras e aumento da estabilidade na fermentação ruminal de animais que recebem este aditivo (WALLACE, 1994).

A *Saccharomyces cerevisiae* reduz o teor de lactato no rúmen ao competir com as bactérias que produzem lactato por moléculas de alta fermentabilidade ruminal, ou por estimulas da população de bactérias utilizadoras de lactato (OLIVEIRA, 2008).

O pH ideal para o crescimento das leveduras é de 4,5. Em condições normais, o rúmen apresenta pH entre 6,4 a 7,0, o que reduz a taxa de crescimento e multiplicação das leveduras (NEWBOLD; WALLACE; MCINTOSH, 1996). Conforme Martin e Nisbet (1992) as leveduras atuam mantendo o pH do rúmen mais estável ao longo do dia. Apesar disso, não tem sido encontrado efeitos positivos no nível de pH com o uso de leveduras como esperado o que pode ter ocorrido devido a diferentes dietas e manejos dos experimentos realizados (BITENCOURT, 2008).

O conteúdo ruminal é essencialmente anaeróbico, porém pequenas concentrações de O₂ dissolvido podem ser encontradas. O O₂ que entra no rúmen através do alimento e da saliva é tóxico para as bactérias anaeróbicas e reduz a adesão das bactérias celulolíticas à celulose, uma das fontes de energia para vacas leiteiras (NEWBOLD; WALLACE; MCINTOSH, 1996). A remoção do O₂ presente no rúmen através da atividade respiratória das leveduras, leva ao aumento das bactérias anaeróbias presentes no fluido ruminal, principalmente bactérias celulolíticas (WALLACE; NEWBLOND, 2007).

Os resultados de pesquisas sobre suplementação com leveduras para vacas em lactação têm sido variáveis. Nocek e Kautz (2006) utilizando quarenta e quatro vacas em período de transição, sendo os animais suplementados com 2g de *Enterococcus faecium* durante 21 dias pré-parto e 10 semanas pós-parto, observaram um aumento na ingestão de matéria seca e uma maior produção de leite (2,3kg/vaca/dia) comparado com vacas não suplementadas. Porém, não encontraram diferenças na porcentagem de gordura ou proteína do leite.

Quarenta e oito vacas holandesas, sendo trinta e seis multíparas e doze primíparas, que consumiram culturas de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) durante o 28 dias antes e 13 semanas após o parto, na dose de 15 e 20 g/dia, não foi constatado diferença no consumo de matéria seca, produção e composição do leite de vacas alimentadas com leveduras (SODER; HOLDEN, 1999).

Wohlt, Corcione e Zajac (1998) com trinta e seis vacas holandesas multíparas alimentadas com diferentes níveis de levedura na dieta, concluíram que o consumo de matéria seca (MS) e a produção de leite foram maiores em vacas alimentadas com 20g/vaca/dia de levedura do que em vacas alimentadas com 10g/vaca/dia de levedura, porém os resultados não foram significativos estatisticamente.

Dann *et al.* (2000) avaliaram o efeito da suplementação com levedura na dose de 60g/dia em dietas para vacas da raça Jersey, primíparas e multíparas nos últimos 21 dias pré-parto até os primeiros 140 dias pós-parto e constataram um aumento na ingestão de matéria seca nos últimos sete dias de gestação e nos primeiros 42 dias de lactação. As vacas suplementadas atingiram o pico da lactação mais cedo porem não houve aumento na produção total nem mudanças na composição do leite.

Popovic *et al.* (1998) ao suplementarem 40 novilhas prenhes e 40 vacas de segunda à quarta lactação, da raça holandês, divididas em dois grupos iguais (grupo experimental e de controle) com 10g/vaca/dia de cultura de leveduras e minerais “orgânicos” (Selênio e Zinco) durante 90 dias observaram um aumento de 171kg de leite neste período nos animais que receberam a suplementação.

Vários autores observaram efeito benéfico da levedura em dietas com alto teor de amido, corroborando com a hipótese que este tipo de aditivo leva a melhores respostas quando as condições de ambiente ruminal são mais críticas (ABUD, 2012). O amido é fermentado em uma taxa mais baixa pelos protozoários do que pelas bactérias amilolíticas e os principais produtos finais da fermentação são os AGV em maior quantidade e o ácido láctico, sendo que este último pode ser reduzido através da inclusão de leveduras a qual metaboliza o ácido láctico e estabiliza do pH ruminal (DIAS, 2014) melhorando assim o ambiente ruminal.

Kung Junior *et al.* (1997) utilizando 0, 10 ou 20g de leveduras vivas em 18 vacas com média de 75 dias de lactação encontraram valores de 36,4kg/vaca/dia para animais não suplementados, 39,3 kg/vaca/dia para animais suplementados com 10g por dia e 38kg/vaca/dia para animais suplementados com 20g de levedura. Embora um grupo tenha utilizado uma maior quantidade de levedura, não se observaram aumento na produção de leite.

Bitencourt (2008) ao utilizar 10 gramas de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) ou 10g de veículo inerte na dieta de 20 vacas holandesas multíparas observou aumento na produção diária de leite, proteína e lactose, mas não encontrou efeito na produção de gordura do leite. Já Adams *et al.* (1995), com 40 vacas divididas em dois grupos onde era o controle e o outro recebia 10 gramas de leveduras, observaram diminuição no teor de proteína e aumento na porcentagem de gordura do leite no grupo que recebia as leveduras.

Oliveira *et al.* (2007) ao suplementarem 10 gramas de levedura viva (Levumilk, cepa KA500) para vacas holandesas em lactação observaram diminuição na contagem de células somáticas do leite, podendo inferir uma melhora do sistema imune dos animais que receberam esse aditivo.

Seis vacas holandesas múltíparas, com 90 ± 35 dias em lactação, receberam 50g/vaca/dia de levedura viva *Saccharomyces cerevisiae* (RumiSacc) houve um aumento na produção de leite (24.97kg/dia versus 23,49 kg/dia), porcentagem de gordura em 14,5%, de proteína em 5,8% e de lactose do leite em 4,8% comparado com vacas alimentadas com a dieta controle (YALÇIN *et al.*, 2011).

Higginbotham *et al.* (2000) em um estudo com 200 vacas em lactação em estágio inicial, adicionou 4g/vaca/dia de leveduras vivas na dieta. Verificaram menor número de contagem de células somática (CCS) do que animais suplementados com 56g/vaca/dia de leveduras mortas. Conforme os autores, a vantagem de utilizar levedura viva é que ela estimular o sistema imunológico, resultando em melhor saúde animal.

Em alguns trabalhos de pesquisa foi verificado que a suplementação de leveduras não foi benéfica aos animais. Isso foi evidenciado por Bitencourt (2008) que ao suplementar 10g de leveduras vivas ou 10g de veículo inerte na dieta de 20 vacas holandesas múltíparas, não encontrando diferença significativa no número de CCS do leite.

Diferenças no manejo alimentar, na relação entre forragem e concentrado, nos tipos de forragens e concentrados utilizados e diferenças no estágio de lactação são alguns dos motivos que podem ser responsáveis por tantas diferenças encontradas nos trabalhos onde há inclusão de *Saccharomyces cerevisiae* (BITENCOURT, 2008).

3.3 Uso de óleos essenciais na alimentação de vacas leiteiras

Os óleos essenciais são uma mistura de diversos compostos como terpenos, álcoois, acetonas, fenóis, ácidos, aldeídos e ésteres extraídos por destilação de partes de plantas, tais como flores, brotos, sementes, folhas, galhos, cascas, madeira, frutos e raízes (GIANNENAS *et al.*, 2013).

Cada componente dos óleos essenciais possui propriedades diferentes, o que dá a eles uma característica complexa, levando a diferentes efeitos dependendo da concentração de seus componentes (MORAIS, 2009). De acordo com Barbosa (2010) os componentes majoritários geralmente determinam as propriedades biológicas dos óleos essenciais.

Além da diferença que existe na composição dos óleos extraídos de diferentes plantas, também pode ocorrer grande variação devido ao local da planta onde é extraído ou mesmo em óleos extraídos do mesmo local de plantas cultivadas em diferentes condições. (MORAIS, 2009).

Os óleos essenciais atuam na parede celular das bactérias, desnaturando-as e coagulando proteínas. Com isso, há alteração da permeabilidade da membrana citoplasmática para íons de hidrogênio e potássio, causando a parada dos processos vitais da célula, como transporte de elétrons, translocação de proteínas, fosforilação e outras reações que dependem de enzimas, o que resulta em perda do controle quimiosmótico da célula afetada, levando a morte bacteriana (DORMAN; DEANS, 2000).

Algumas classes de compostos causam tal efeito, como por exemplo, a classe dos compostos fenólicos (fenóis simples – cetocol, ácidos fenólicos – ácido anacárdico, cinâmico, caféico e rícínoleico, quinonas – hipericina, flavonóis – totarol, taninos – Elagitanina, Cumarinas – Warfarin), terpenóides (Capsaicina, Thimol Mentol, Carvacrol, Cânfora, Eugenol) e fenóis (RIVAROLI, 2014).

Existe um maior efeito dos óleos essenciais em bactérias Gram-positivas (CALSAMIGLIA *et al.*, 2007), porém Helander *et al.* (1998) relataram que os compostos fenólicos do timol e carvacrol também inibiram o crescimento de bactérias Gram-negativas através da ruptura da membrana celular externa e conforme Griffin *et al.* (1999) comenta que por difusão as substâncias atravessam a parede externa através dos lipopolissacarídeos ou proteínas da membrana, chegando à dupla camada fosfolipídica da parede celular interna dessas bactérias.

A ação antioxidante dos óleos essenciais possui relação principalmente com os compostos fenólicos. Porém, os compostos flavonóides e terpenóides também apresentam atividade antioxidante. Essas substâncias tem a capacidade de interceptar e neutralizar radicais livres, evitando assim a propagação do processo oxidativo, no entanto, se utilizado em excesso, os óleos essenciais podem ter atividade pró-oxidante (KOLLING, 2016).

Além dos efeitos antimicrobianos e atividade antioxidante, alguns autores afirmam que os óleos essenciais também atuam melhorando a digestão. Acredita-se que eles possam estimular a produção de saliva e dos sucos gástricos e pancreáticos, aumentando a secreção enzimática e melhorando a digestibilidade dos nutrientes (MELLOR, 2000).

Para obter melhores resultados, Langhout (2000) acredita que seja necessário administrar combinações de óleos essenciais de diferentes plantas já para Kamel (2000), o composto deve estar reforçado pelos princípios ativos mais relevantes.

Pesquisadores acreditam que a principal vantagem associada aos óleos essenciais está em sua capacidade de reduzir a degradação de proteína e causar maior escape de nitrogênio ruminal. Portanto, levanta-se a hipótese que eles atuam na redução da taxa de

desaminação ruminal e no decréscimo da adesão e colonização das bactérias proteolíticas aos seus substratos (McEWAN *et al.*, 2002).

Com a adição de óleos essenciais à dieta dos ruminantes pode haver mudanças nas concentrações dos ácidos graxos voláteis (AGV), ocorrendo redução da concentração de acetato e aumento de propionato, devido à atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas (JONHSON; JONHSON, 1995) corroborando com Araujo (2010) que também constatou em um experimento *in vitro*.

Em estudos *in vitro* alguns pesquisadores notaram que a concentração total de AGV depende da dose de extrato utilizada, e que doses elevadas foram tóxicas aos microrganismos e reduziram a concentração de AGV totais (CASTILLEJOS *et al.*, 2005).

Em relação à influência do meio externo, pode-se modular o efeito dos óleos essenciais pelo pH do meio. Em menor pH, o óleo essencial permanece na forma indissociado, o que aumenta sua hidrofobicidade e sua capacidade de interagir com as proteínas e os lipídios da membrana bacteriana (CALSAMIGLIA *et al.*, 2007). Sendo assim, rações ricas em concentrado, mais propensas ao baixo pH ruminal, podem potencializar os efeitos desses produtos, tornando-o mais efetivo (OLIVEIRA, 2013).

Um fato que deve ser levado em consideração é que, por serem voláteis, os óleos essenciais podem ser perdidos para a fase gasosa do rúmen e serem expelidos por eructação (MARÓSTICA JUNIOR; PASTORE, 2007).

Em um estudo com oito vacas em lactação da raça Holandês no terço médio da lactação com duração nos meses de verão, os animais foram suplementados com monensina (30mg /kg de MS), óleo essencial (0,5g/kg de MS) e uma mistura destes tratamentos na dieta. Os autores concluíram que com a adição do óleo na dieta houve aumento do consumo de matéria seca, da produção de leite, da proteína e da gordura em kg/dia em relação as demais tratamentos (MARTINS *et al.*, 2015).

Oito vacas da raça Holandês em lactação receberam uma dieta suplementada com ou sem 5% de hortelã-pimenta seca por dieta em uma base de matéria seca, a digestão de nutrientes a partir de vacas alimentadas com a dieta de hortelã-pimenta foi significativamente menor do que a do grupo de controle. Porém, a fermentação ruminal e a produção de leite não foram afetadas pela alimentação de hortelã-pimenta (HOSODA *et al.*, 2005).

Quatro vacas da raça Holandês receberam a suplementação líquida de casca de castanha de caju em uma ração mista total (base de matéria seca) nas doses de 0%, 0,012%, 0,024%, 0,036% onde a ingestão de até 7g/vaca/dia (0,036%) da suplementação líquida da casca de castanha de caju apresentou um pequeno efeito na composição de ácidos graxos do

leite, mas não influenciou o consumo, a digestibilidade dos nutrientes, a produção e a composição do leite (COUTINHO *et al.*, 2014).

Em um estudo com 24 vacas da raça Holandês, 75,89±99,74 dias de lactação, foi comparado a adição de óleo essencial Crina® Ruminants na dose de 1g/vaca/dia, a quitosana na dose de 150mg/kg de peso vivo e a monensina na dose 24mg/kg de matéria seca na dieta. Não foi observado diferença significativa no consumo de matéria seca, produção e composição do leite entre os tratamentos (VENDRAMINI, 2015).

Vinte e quatro vacas múltiparas da raça Holandês, das quais seis possuíam cânula ruminal, onde foi comparado óleo funcional na dose de 500mg/kg da MS (Essential® Oligo Basics) a monensina sódica na dose de 22mg/kg da MS. A inclusão de óleo funcional na dieta aumentou a produção de leite e a concentração de propionato ruminal, sem alteração no consumo e a digestibilidade da matéria seca e nutrientes. Houve aumento na proteína e lactose do leite, porém não houve aumento significativo na quantidade de gordura do leite (JESUS, 2015).

Sete vacas em lactação da raça Holandês com cânulas **ruminais**, em projeto retângulo latino incompleto, receberam diferentes tipos de óleos essenciais sendo um na dose de 0,5g/vaca/dia (85mg de cinamaldeído e 140mg de eugenol) que é a dose recomendada pelo fabricante, outro 10g/vaca/dia (1700mg de cinamaldeído e 2800mg de eugenol) que é considerada uma dose alta, 0,25g /vaca/dia (50mg de capsicum) que é a dose recomendada, ou nenhum óleo (controle), durante 21 dias, sendo que o pH ruminal, a produção e a composição do leite não foram alterados com a utilização de óleos essenciais (TAGER; KRAUSE, 2011).

Trinta e duas vacas da raça Holandês (n=16) e mestiços Holandês e Gir (n=16), divididas em quatro grupos foram suplementadas com 10g de extrato de orégano, 5,0g de extrato de chá verde, um mix dos tratamentos anteriores e grupo controle. As vacas que receberam o extrato de chá verde apresentaram maior consumo de matéria seca e maior produção de leite comparado aos demais tratamentos (KOLLING, 2016).

Em um trabalho com oito vacas leiteiras primíparas utilizando doses crescentes de óleos essenciais micro encapsulados, onde foram fornecidos 0,32; 0,64 e 0,96g/dia de uma mistura comercial de óleos essenciais (RumaXol Feed), composta de óleo de orégano, canela, tomilho e casca de laranja, constatou-se que a ingestão de matéria seca, a produção e os componentes de leite não foram afetados (SPANGHERO *et al.*, 2009)

Dois experimentos foram realizados para determinar o efeito de um aditivo, contendo uma mistura encapsulada de cinamaldeído e eugenol. No primeiro experimento, 32 vacas leiteiras da raça holandês em lactação foram atribuídos a nenhum aditivo ou suplementação

com cinamaldeído e eugenol (350mg/dia), durante 6 semanas. No segundo experimento, 48 vacas leiteiras da raça holandês foram atribuídas a nenhum aditivo ou suplementação com cinamaldeído e eugenol (200, 400, ou 600mg/dia) durante 8 semanas. No primeiro experimento houve um aumento na produção de leite apenas nas vacas multíparas. No segundo experimento a produção de leite de vacas multíparas foi diminuída nas duas doses mais elevadas, enquanto que a produção de leite de vacas primíparas foi aumentada em doses baixas e altas de óleos essenciais. Em nenhum dos experimentos houve efeito na CCS ou na composição do leite (PAREDE *et al.*, 2014).

Vacas holandesas multíparas consumindo rações completas com suplemento de óleos essenciais obtiveram melhor eficiência alimentar consumindo 1,2g/dia de óleos essenciais comparado com o grupo controle, porém não foi observado nenhum benefício na produção de leite (TASSOUL; SHAVER, 2009).

Sessenta vacas lactantes da raça Holandês distribuídas em quatro grupos receberam uma mistura de óleos essenciais (0, 16, 48 ou 32mg/litro de água potável) durante oito semanas constatou-se que a adição de 16 mg/litro melhorou o desempenho animal pois diminuiu o consumo de alimentos e aumentou significativamente a produção de leite. Os níveis mais elevados diminuíram ($p>0,05$) a produção de sugerindo que a adição de níveis mais elevados a longo prazo possui efeito adverso no metabolismo e na produtividade das vacas leiteiras (SOLTAN, SHEWITA; AL-SULTAN, 2009).

Ferlay *et al.* (2010) forneceram uma dieta com silagem de milho, linhaça extrusada, vitamina E e extratos de plantas ricas em polifenóis (alecrim, casca e semente da uva, citros e flor de calêndula) para 24 vacas lactantes (12 da raça holandês e 12 da raça Montbeliarde), não encontram efeito para os teores de gordura e proteína do leite.

Benchaar e Chouinard (2009) em estudo com 4 vacas em lactação ao fornecer 1g/dia de cinamaldeído, 150g/dia de taninos condensados e 60g/dia saponinas não notaram alteração no perfil de ácidos graxos da gordura do leite dos animais.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os procedimentos experimentais seguiram a Constituição Federal Brasileira sobre o uso científico de animais e foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade de Cruz Alta – UNICRUZ sob o protocolo nº 07/16.

4.1 Local e época

O experimento foi conduzido no período de janeiro a março de 2015, no tambo experimental da Cooperativa Central Gaúcha Ltda. (CCGL Tec), no município de Cruz Alta, localizada na região fisiográfica denominada Planalto Médio do Rio Grande do Sul, com altitude de 452 metros, latitude 28° 38' 19" S e longitude 53° 36' 23" W. O clima da região é subtropical úmido. O experimento teve duração de 8 semanas, sendo as 2 primeiras o período de adaptação.

4.2 Tratamentos e animais experimentais

No experimento foram utilizadas 33 vacas da raça Holandês, com média de 174 dias em lactação e uma produção média de 29 litros de leite/dia no início do experimento.

As vacas foram divididas em grupos homogêneos de acordo com a produção de leite e estágio de lactação, sendo que sete vacas receberam 20 gramas diárias de um premix contendo levedura (*Saccharomyces cerevisiae*), Zinco, Selênio, Vitamina E e bentonita sódica (Premix20); sete vacas receberam 30 gramas do mesmo premix (Premix30); sete vacas receberam 1,5 gramas de um *blend* de óleos essenciais microencapsulados (OE1,5), seis vacas receberam 3,0 gramas do mesmo óleo essencial (OE3,0); e seis vacas não receberam nenhum dos tratamentos (controle=C).

O premix composto de 2500 UI de vitamina E, 66,70mg Selênio (98% orgânico), 5832,00mg Zinco, $3,34 \times 10$ UFC/g de *Saccharomyces cerevisiae* CNCM-1077, 16% de Parede de levedura (MOS 22%) em cada Kg. Os principais princípios ativos do *blend* de óleos essenciais microencapsulados são a capsaicina, encontrada na pimenta; o eugenol, encontrado no cravo; o cinamaldeído, encontrado na canela e o carvacrol, encontrado no orégano. A composição do sal mineral utilizado no experimento foi 57,10mg/Kg de Biotina, 320g/kg de Cálcio, 12,50mg/kg de Cobalto, 362,00mg/kg de Cobre, 10,00g/kg de Enxofre, 40g/kg de Fósforo, 31,00mg/kg de Iodo, 25g/kg de Magnésio, 2.375,00mg/kg de Manganês, 750mg/kg de Monensina, 15,80mg/kg de Selênio, 65g/kg de Sódio, 100.000,00UI/Kg de Vitamina A, 25.000,00UI/Kg de Vitamina D3, 625,00UI/Kg de Vitamina E, 2.375,00mg/kg de Zinco.

4.3 Manejo dos animais e dieta

Os animais foram mantidos em regime semi-intensivo, onde durante o dia, permaneciam em pastagem de sorgo forrageiro (*Sorghum vulgare*) em estágio vegetativo. As vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia, as 6 e as 16 horas, e logo após foram conduzidas para a sala de alimentação onde recebiam no cocho o concentrado e a silagem de milho. Os animais possuíam acesso a água e sal mineral *ad libitum*.

Os animais receberam suplementação de 10kg de concentrado no cocho, fracionados em dois fornecimentos diários. Os aditivos foram fornecidos no cocho misturado com o concentrado, uma vez ao dia, de acordo com cada tratamento, para garantir que o mesmo fosse consumido. A quantidade de silagem fornecida diariamente, duas vezes ao dia após o consumo do concentrado no início do experimento foi de 4,2kg/dia e no final foi de 9,2kg/dia. Houve um aumento na quantidade de silagem fornecida devido ao sorgo forrageiro estar próximo ao final do ciclo de produção.

Amostras dos alimentos da pastagem de sorgo forrageiro, da silagem de milho e do concentrado foram coletadas e encaminhadas ao laboratório 3R lab da CCGL para análise bromatológica dos teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM) de acordo com a metodologia de Silva e Queiroz (2002), e do teor de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (LIG) segundo Van Soest *et al.* (1991).

4.4 Parâmetros avaliados

4.4.1 Produção de leite e composição do leite

A produção de leite foi mensurada individualmente, uma vez por semana, nas ordenhas matutinas e vespertinas utilizando medidores automáticos de leite graduado em litros e acoplado a ordenha.

Semanalmente uma alíquota do leite proveniente da mistura proporcional das ordenhas matutina e vespertina de cada vaca foi acondicionada em frascos contendo Bronopol (2bromo-2nitropropano-1,3diol), na proporção de 10mg de princípio ativo para 50ml de leite, para posterior quantificação das concentrações de gordura, lactose, proteína, sólidos totais. As amostras foram resfriadas a 4°C, acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável e encaminhadas ao laboratório SARLE (Serviço de análise de rebanhos leiteiros) da Universidade de Passo Fundo (UPF) e enviadas na mesma semana em que foi realizada a coleta.

Os teores de gordura, lactose, sólidos totais, proteína do leite foram determinados por meio de eletrofotometria por radiação infravermelha (*BENTLEY 200*) e contagem de células somáticas (CCS) por contagem eletrônica por citometria de fluxo (*BENTLEY 300*).

4.4.2 Medidas fisiológicas

A mensuração da temperatura retal, da frequência respiratória e da frequência cardíaca foi realizada semanalmente, no período da tarde, após a ordenha das 16 horas.

A temperatura retal foi aferida através de um termômetro clínico veterinário, inserido no reto do animal a uma profundidade de 5cm, aproximadamente. As frequências respiratórias e cardíacas foram mensuradas com a utilização de um estetoscópio, sendo a cardíaca expressa em número de batimentos por minuto e a respiratória através de movimentos respiratórios por minuto, controlados através de um cronômetro durante 15 segundos, após multiplicando por quatro para se obter o resultado esperado.

4.4.3 Índice de temperatura e umidade

Os dados de temperatura ambiente e umidade relativa do ar foram observados diariamente no mesmo horário da avaliação das medidas fisiológicas através do centro meteorológico da CCGL.

O Índice de Temperatura e Umidade (ITU) foi calculado a partir da fórmula de Thom (1958) descrita a seguir:

$$ITU = ta + 0,36 tpo + 41,5$$

Onde:

ta: temperatura do ar (°C);

tpo: temperatura de ponto de orvalho (°C)

4.5 Delineamento Experimental e Análises Estatísticas

O experimento foi composto de cinco tratamentos: C = controle - sem adição de aditivos; Premix20 = 20g/dia de leveduras; Premix 30 = 30g/dia de leveduras; OE1,5 = 1,5g/dia de óleos essenciais; OE3,0 = 3,0g/dia de óleos essenciais. As vacas foram consideradas unidades experimentais, com seis repetições no tratamento controle e OE3,0 e sete repetições nos demais tratamentos.

Os dados relativos às medidas fisiológicas, à produção e composição do leite foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey, com medidas repetidas no tempo utilizando o programa estatístico SAS 9.2 for Windows® (SAS, 2008). As médias foram comparadas por LSMEANS. As medidas fisiológicas foram submetidas à análise de variância (PROC MIXED), considerando o efeito de semana, tratamento, interação tratamento e semana e covariável, efeito fixo= tratamento, semana e ITU e efeito aleatório= animal. Foram adotados os valores para as probabilidades de 0,05 para significância.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 2 pode-se observar a composição bromatológica dos ingredientes e da dieta.

Tabela 2. Composição bromatológica da pastagem de sorgo forrageiro, silagem e concentrado fornecidos aos animais. CCGL, Cruz Alta, RS, 2016.

Alimento	MS	PB	EE	MM	FDN	FDA	LIG
Silagem de milho	34,88%	8,29%	4,46%	3,49%	39,56%	20,51%	1,47%
Concentrado	88,89%	22%	2,6%	8,7%	19%	8,7%	3,0%
Sorgo forrageiro	16,89%	22,05%	3,21%	3,72%	49,16%	31,55%	2,82%

Legenda: MS = Matéria seca; PB = Proteína bruta; EE = Extrato estéreo; MM = Matéria mineral; FDN = Fibra em detergente neutro; FDA = Fibra em detergente ácido; LIG = Lignina.

A dieta oferecida aos animais atende as exigências nutricionais para vacas produzindo 29 litros de leite, conforme o NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001).

Durante o período experimental a temperatura corporal dos animais não variou entre os tratamentos ($P > 0,05$). Os demais parâmetros fisiológicos avaliados foram significativamente diferentes entre os tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3. Valores médios de temperatura, frequência cardíaca e frequência respiratória de vacas da raça Holandês em lactação. CCGL, Cruz Alta, RS, 2016.

Atributo	Premix30	Premix20	OE3,0	OE1,5	C	P > F
Temperatura(°C)	39,31 ± 0,76	39,30 ± 0,71	39,45 ± 0,59	39,30 ± 0,87	39,44 ± 0,58	0,5899
FC (bat/min)	74,66 ± 4,7 ^{ab}	73,92 ± 5,41 ^b	75,01 ± 5,66 ^{ab}	74,43 ± 4,77 ^{ab}	76,43 ± 4,50 ^a	0,0384
FR (mov/min)	27,58 ± 3,5 ^b	27,69 ± 3,95 ^b	30,01 ± 5,63 ^a	28,53 ± 4,09 ^{ab}	28,97 ± 3,47 ^{ab}	0,0060

*Médias seguidas por letras distintas na linha são diferentes ($P < 0,05$)

**Premix30 = 30 gramas de premix contendo levedura; Premix20 = 20 gramas de premix contendo levedura; OE3,0 = 3,0 g de *blend* de óleos essenciais; OE1,5 = 1,5 g de *blend* de óleos essenciais; C = Controle

Em bovinos, os limites ideais de temperatura corporal para a produtividade e a sobrevivência devem ser mantidos entre 38°C e 39°C (PIRES; CAMPOS, 2004). Os valores

obtidos da temperatura em todos os grupos foram maiores 39,2°C o que segundo West (2002) é indicativo de estresse térmico.

Frequentemente a medida de temperatura retal é utilizada como índice de adaptabilidade fisiológica aos ambientes quentes, visto que seu aumento mostra que os mecanismos de liberação de calor não foram suficientes para manter a homeotermia (MATARAZZO, 2004).

Em uma pesquisa fornecendo seis extratos de plantas naturais e três metabólitos secundários de plantas foram testados em cinco doses (0, 0,3, 3, 30, e 300mg/litro) em dois diferentes pH (7,0 e 5,5) para determinar os efeitos *in vitro* sobre a atividade microbiana de fermentação usando fluido ruminal de novilhas alimentadas com uma alta quantidade de concentrado. Os tratamentos foram extratos de alho, canela, mandioca, anis, orégano, capsicum e os metabólitos secundários de plantas foram o cinamaldeído, o anetol e o eugenol. Os extratos de alho, mandioca, capsicum e o metabólito secundário de planta cinamaldeído diminuíram a proteólise ruminal (CARDOZO *et al.*, 2005) o que pode impedir o aumento da temperatura do corpo sob estresse calórico através da redução na produção de calor metabólico (ARIELI; ADIN; BRUCKENTAL, 2004). Nesse estudo, nenhum tratamento interferiu na temperatura corporal dos animais.

Animais do grupo controle apresentaram maior frequência cardíaca comparada aos animais suplementados com 20 gramas do premix com leveduras, 76,43 e 73,92 bat/min, respectivamente, não diferindo dos demais tratamentos. Conforme Head (1995), a frequência cardíaca normal de uma vaca leiteira é de 60 a 80 pulsações por minuto. Portanto os animais possuíam esse parâmetro dentro dos limites fisiológicos.

A média da frequência respiratória dos animais suplementados com 3 gramas de óleos essenciais foi de 30,01 movimentos respiratórios por minuto diferindo das médias dos animais suplementados com 30 e 20 gramas de premix com leveduras.

O aumento da frequência respiratória é o primeiro sinal visível do animal submetido ao estresse térmico, embora este seja o terceiro na sequência dos mecanismos de termorregulação (BACCARI JUNIOR, 2001). No presente experimento, a frequência respiratória não indicou uma situação de desconforto, tendo em vista que movimentos respiratórios entre 24 e 36 por minuto indicam ausência de estresse térmico (FERREIRA *et al.*, 2006).

A temperatura retal e a frequência cardíaca obtiveram diferença significativa entre os tratamentos relacionados com o ITU (Tabela 4).

Tabela 4. Parâmetros fisiológicos e o índice bioclimático

Variável	Premix30	Premix20	OE3,0	OE1,5	C	P
TR	39,31 ^{ab}	39,30 ^b	39,45 ^a	39,30 ^b	39,44 ^{ab}	0,0429
FC	74,66 ^{ab}	73,92 ^b	75,01 ^{ab}	74,43 ^{ab}	76,43 ^a	0,0168
FR	27,58	27,69	30,01	28,53	28,97	0,0731

*Médias seguidas por letras distintas na linha são diferentes (P<0,05)

**TR: temperatura retal; FC: frequência cardíaca; FR: frequência respiratória; trat: tratamento; Premix30 = 30 gramas de premix contendo levedura; Premix20 = 20 gramas de premix contendo levedura; OE3,0 = 3,0 g de *blend* de óleos essenciais; OE1,5 = 1,5 g de *blend* de óleos essenciais; C = Controle.

Em 100% das mensurações feitas (Tabela 5), o ITU manteve-se acima de 72, valor considerado determinante para ocorrência de estresse térmico para vacas leiteiras da raça holandês (AIRES, 2012).

Tabela 5. Temperatura do ar, ponto de orvalho e índice de temperatura e umidade (ITU)

	Temperatura	Pto. Orvalho (°C)	ITU	Produção de leite (L)
1ª semana	30,9	21,6	79,366	26,89
2ª semana	30,8	20,8	79,788	29,94
3ª semana	31,1	22,5	80,700	25,70
4ª semana	30,5	20,9	79,524	26,37
5ª semana	26,5	19,2	74,912	29,11
6ª semana	24	19,5	72,52	25,84
7ª semana	27,2	20,6	76,116	24,18
8ª semana	30,2	19,1	78,576	22,30

Pto.: ponto; ITU: índice de temperatura e umidade; L: litros.

Embora o ITU abaixo de 72 caracterize um ambiente sem estresse por calor, alguns trabalhos indicam que os parâmetros fisiológicos e as produções de leite foram afetados em valores de ITU bem abaixo de 72. Com um ITU de 64 e 72 houve grande reduções na produção de leite e com ITU igual a 68 houve em uma perda de leite de 2,2kg/dia em vacas que produziam mais de 35kg/dia (COLLIER, 2012). Em nosso experimento as vacas tiveram a menor produção com ITU entre 75 e 78, sendo que a menor produção foi obtida com ITU de 78.

Em um estudo com quinze vacas holandesas em lactação em *free-stall* foi observado que os valores de ITU por volta de 77 proporcionaram situação de conforto para os animais confinados e valores de ITU acima de 80 a situação de estresse térmico é alto. Estes dados tiveram como referencia a frequência respiratória e temperatura retal dos bovinos, sendo que os animais que possuíam temperatura retal (TR) maior que 39,2 e frequência respiratória (FR)

maior que 64 mov/min foram considerados fora da zona de conforto (PERISSINOTTO; MOURA, 2007).

Brown-Brandl *et al* (2005) dividiu as áreas de risco climático para a produção leiteira em quatro categorias de acordo com o índice de temperatura e umidade, sendo um ITU inferior a 74, as condições ambientais são apropriadas para a criação de vacas leiteiras; um ITU entre 74 e 78, as condições são aceitáveis, podendo ocorrer um decréscimo na produtividade; um ITU entre 78 e 84 está associado a condições ambientais com estresse moderado, onde os animais podem apresentar reduções significativas na produção e um ITU maior que 84, as condições ambientais são de estresse severo, sendo necessário adotar técnicas de manejo visando reduzir o estresse e evitando a mortalidade dos animais. De acordo com as médias encontradas para ITU, podemos considerar que, na maioria das semanas, as vacas estavam em estresse moderado.

Silva, Morais e Guilhermino (2007) em um experimento com 359 vacas holandesas e 54 vacas da raça Jersey (total de 1359) coletadas em rebanhos comerciais no nordeste do Brasil foram utilizados para avaliar seis índices de estresse ambiental concluíram que o índice de temperatura e umidade e o índice de globo negro e umidade não estão correlacionadas com as respostas fisiológicas de vacas leiteiras em um ambiente tropical.

Aguiar *et al.* (1996) concluíram que um ITU entre 72,3 e 74,4 diminuiu entre 3,6 e 4,5% a produção de leite de vacas Holandesas e que as variáveis fisiológicas foram mais elevadas à tarde, mas apenas a frequência respiratória (FR) relacionou-se significativamente com as condições ambientais. Aguiar e Targa (2001) observaram uma redução na produção de leite de vacas holandesas expostas ao sol, com uma temperatura do ar de 27°C e ITU de 72, por um período de quatro horas por dia durante cinco dias, o que pode ser explicado pela exposição à radiação solar direta que intensificou o estresse térmico.

Matarazzo (2004) avaliou 12 vacas multíparas com produção média de 30kg de leite alojadas em sistema *free-stall*, na região sudoeste do Brasil, nos meses de janeiro a maio concluiu que embora com ITU acima de 75 no ambiente, as variáveis de temperatura retal e frequência respiratória não indicaram presença de estresse. Em nosso experimento mesmo com ITU acima de 75 a frequência respiratória manteve-se dentro dos parâmetros fisiológicos, não indicando presença de estresse térmico.

Em um estudo com vacas lactantes em sistema *free-stall*, na primavera, verão e no inverno, mesmo com ITU acima de 79, considerado estressante para vacas lactantes, não foram evidenciados valores estressantes para TR e FR e reduções na produção de leite o qual pode ser justificado pelo tipo da instalação que possuía laterais totalmente abertas

minimizando efeitos negativos durante as horas mais quentes do dia, favorecendo a dissipação do calor endógeno (MARTELLO, 2006).

Estudos recentes avaliando vários aditivos mostrou que uma combinação específica de óleos essenciais consistindo em resina de pimenta, cinamaldeído e eugenol, mostram efeitos positivos no desempenho de vacas em estresse térmico. Em primeiro lugar, a suplementação com resina de pimenta melhora comportamento alimentar através do aumento da frequência de alimentação, sem aumentar o consumo total de alimento, fazendo com que se estabilize a produção de calor pelo rúmen e também reduza a ocorrência de lesões no órgão. Em segundo lugar, a combinação de aldeído cinâmico e eugenol resulta em um melhor perfil de ácidos gordos voláteis e no metabolismo das proteínas. Além disso, essa mistura específica de fitonutrientes diminui a inflamação local do intestino associado ao calor e mantém assim a estrutura ideal do órgão para absorção de nutrientes. Pela ocorrência combinada das moléculas de óleos essenciais no rúmen e no intestino evita-se qualquer calor adicional a ser gerado por vacas leiteiras, otimizando ao mesmo tempo a digestão e a absorção de nutrientes (WALL; MAURIN, 2016).

Os animais produziram mais leite foram aqueles que consumiram 3 gramas do *Blend* de óleos essenciais, diferindo dos animais que consumiram 30 gramas do premix de leveduras não diferindo do demais (tabela 6).

Tabela 6. Médias de produção e composição do leite de vacas Holandês em lactação durante o experimento. CCGL, Cruz Alta, RS, 2016.

Atributo	Premix30	Premix20	OE3,0	OE1,5	C	P > F
PL (L/dia)	24,76 ± 5,80 ^b	25,60 ± 6,31 ^{ab}	28,25 ± 6,44 ^a	25,18 ± 4,18 ^{ab}	26,68 ± 6,74 ^{ab}	0,0145
PRO (%)	3,21 ± 0,28 ^{ab}	3,13 ± 0,34 ^b	3,14 ± 0,23 ^{ab}	3,18 ± 0,24 ^{ab}	3,28 ± 0,27 ^a	0,0394
LAC (%)	4,36 ± 0,17 ^b	4,48 ± 0,16 ^a	4,43 ± 0,20 ^{ab}	4,43 ± 0,20 ^{ab}	4,45 ± 0,15 ^{ab}	0,0113
ST (%)	12,64 ± 0,72 ^{ab}	12,51 ± 0,84 ^{ab}	12,26 ± 0,75 ^b	12,57 ± 0,43 ^{ab}	12,72 ± 0,72 ^a	0,0145
CCS x 10 ³	850.214 ± 1019 ^a	398.000 ± 728 ^b	248.732 ± 239 ^b	229.363 ± 251 ^b	445.864 ± 672 ^b	<0,0001
GOR (%)	4,03 ± 0,56 ^a	3,88 ± 0,63 ^{ab}	3,67 ± 0,57 ^b	3,93 ± 0,46 ^{ab}	3,98 ± 0,54 ^a	0,0089

*Médias seguidas por letras distintas na linha são diferentes (P<0,05)

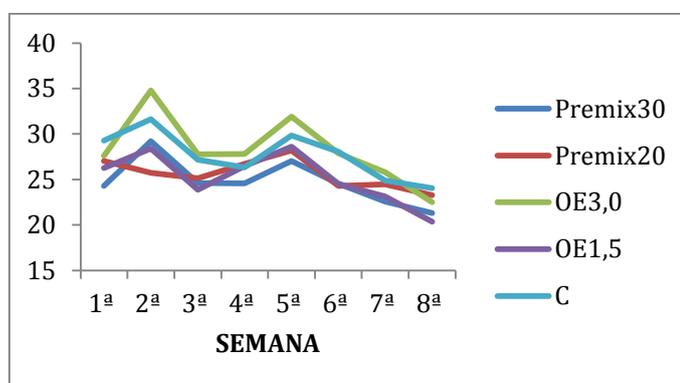
**PL: Produção de leite PRO = Proteína do leite; LAC = Lactose; ST = Sólidos totais; CCS: Contagem de células somáticas; GOR = Gordura do leite; Premix30 = 30 gramas de premix contendo levedura; Premix20 = 20 gramas de premix contendo levedura; OE3,0 = 3,0 g de *blend* de óleos essenciais; OE1,5 = 1,5 g de *blend* de óleos essenciais; C = Controle

A produção de leite do grupo de vacas que recebeu 3 gramas de óleos essenciais foi 5,6% maior do que os animais do grupo controle, havendo uma produção de 1,57 litros de leite a mais por vaca por dia. O aumento na produção de leite com o uso de óleos essenciais

pode estar atribuído a atividade antibacteriana seletiva que este aditivo possui, com redução na degradação da proteína e no processo de desaminação no rúmen, aumentando a eficiência da fermentação ruminal e melhorando a utilização de nutrientes (REZA-YAZDI *et al.*, 2014).

Trinta e duas vacas holandesas foram atribuídas a um dos tratamentos, sendo um controle e o outro 2g/vaca/dia de um composto de óleos essenciais (cinamaldeído, eugenol, hortelã-pimenta, coentro, cominho, erva-cidreira e um veículo orgânico) durante 4 semanas obtiveram uma aumento significativo na produção de leite durante exposição ao estresse calórico (REZA-YAZDI *et al.*, 2014) o que também ocorreu na presente pesquisa, com aumento na produção de leite dos animais que receberam na sua dieta 3g/dia de óleos essenciais, no período de estresse térmico, tendo um pico de produção na segunda e na quinta semana (Gráfico 1).

Gráfico 1. Produção de leite de vacas da raça Holandês durante o experimento



Fonte: Dettmer, 2016.

Premix30 = 30 gramas de premix contendo levedura; Premix20 = 20 gramas de premix contendo levedura; OE3,0 = 3,0 g de blend de óleos essenciais; OE1,5 = 1,5 g de blend de óleos essenciais; C = Controle.

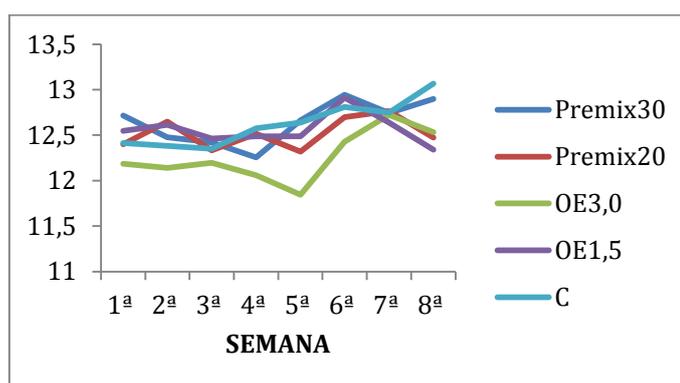
Oliveira (2013) em um experimento com 20 vacas Holandesas primíparas utilizando um composto de óleos essenciais microencapsulados (capsaicina, eugenol, cinamaldeído e carvacrol) nas doses de 0; 1,5; 3,0 e 4,5g/vaca/dia, durante 60 dias, não observou diferença ($P > 0,05$) entre a produção e componentes do leite, pois o aporte de nutrientes advindos da alimentação não foi maior a ponto de aumentar sua produção e nem o metabolismo do animal e da sua microbiota e influenciar nessas características.

Suñé e Muhlbach (1998) em um estudo com 11 vacas Holandês no início da lactação utilizando 10g/dia de uma cultura de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*, cepa 1026), durante 11 semanas de lactação, obtiveram aumento na produção de leite (16,44kg/dia controle para 19,32kg/dia).

Segundo Soder e Holden (1999) o melhor período para utilizar leveduras na dieta de vacas leiteiras é no terço inicial da lactação devido à diminuição da ingestão de matéria seca (IMS) e o pico de lactação que ocorrer nesta fase. Como nesse estudo as vacas não estavam nesse período de lactação pode ter sido esse o motivo pelo qual houve uma menor produção de leite com o uso de 30 gramas de leveduras.

A média dos sólidos totais foi maior no tratamento controle diferindo do uso de 3 gramas de óleos essenciais, não diferindo dos demais (Gráfico 2).

Gráfico 2. Percentual de sólidos totais encontrado no leite durante o experimento



Fonte: Dettmer, 2016.

Premix30 = 30 gramas de premix contendo levedura; Premix20 = 20 gramas de premix contendo levedura; OE3,0 = 3,0 g de blend de óleos essenciais; OE1,5 = 1,5 g de blend de óleos essenciais; C = Controle.

O maior índice de gordura foi obtido do leite dos animais que consumiram 30g/dia do premix de leveduras não diferindo estatisticamente do leite do grupo de animais controle. O aumento no percentual de gordura esta relacionada com a baixa produção de leite dos animais desse grupo e também pela modificação que as leveduras fazem no ambiente ruminal, tal como aumento das bactérias celulolíticas, aumento assim a produção de ácido acético e posterior aumento da gordura no leite (ABUD, 2012).

Adams *et al.* (1995) com 40 vacas divididas em dois grupos, sendo um o controle e o outro que recebia 10 gramas de leveduras, houve um aumento significativo na quantidade de gordura do leite de 3,37 para 3,51 com a utilização de leveduras. Uma maior disponibilidade da forragem, mediante a ação da levedura poderia explicar esses números.

Trinta vacas da raça Holandês (4 primíparas e 26 múltíparas) que receberam 1,2g/vaca/dia de leveduras, durante 9 semanas, não obtiveram diferença na porcentagem de gordura, proteína do leite e CCS (KUNG JUNIOR *et al.*, 2008).

Santos *et al.* (2010) ao utilizarem 310 vacas multíparas em início de lactação onde foi fornecido ao grupo experimental 1g/dia de mistura comercial de óleos essenciais (Agolin® Ruminantes), contendo eugenol, acetato de geranil e óleo de coentro, encontraram maior teor (33,2 contra 33,9g/kg) e produção de gordura no leite (1,63 contra 1,66kg/dia) porém não houve alteração na produção de leite.

A maior média de proteína no leite foi do grupo controle diferindo do Premix20, havendo uma diferença de 4,58% entre o grupo controle e o Premix20.

Em um trabalho com 11 vacas Holandês no início da lactação utilizando 10g/dia de uma cultura de levedura obteve a concentração média de proteína do leite dos animais tratados com levedura 3,14% menor que o grupo controle (SUÑÉ; MUHLBACH, 1998). Kalmus (2009) em um estudo com 46 vacas multíparas utilizando 10g cultura de levedura *Saccharomyces cerevisiae* (Yea-Sacc® 1026), duas semanas antes de 14 semanas após o parto, não houve diferença significativa na produção de leite quando foi utilizado leveduras, porém a produção de gordura do leite e a proteína do leite foram maiores no grupo suplementado com leveduras, especialmente no início da lactação.

Conforme Abud (2012) em seu experimento observou que o tratamento com maior quantidade de levedura (9g) apresentou uma menor concentração de proteína no leite ($P > 0,05$) o qual concluiu que as leveduras aumentam a produção de proteína somente quando estão associadas à dieta de baixo teor da mesma na dieta, o que não é o caso do nosso experimento.

Existem relatos de diminuição da proteína no leite, como o de Adams *et al.* (1995) com 40 vacas divididas em dois grupos onde era o controle e o outro recebia 10 gramas de leveduras redução na proteína do leite de 3,17% para 3,01% de vacas alimentadas com leveduras.

Reza-Yazdi *et al.* (2014), com 32 vacas holandesas, utilizando 2g/vaca/dia durante o período de estresse térmico não observaram nenhum efeito ($P > 0,05$) na gordura e na proteína do leite de vacas que consumiram óleos essenciais em relação ao grupo controle, embora identificou-se uma tendência ($P = 0,06$) para um aumento da lactose. Na presente pesquisa, não verificou-se aumento dos componentes químicos do leite das vacas que receberam óleos essenciais em sua dieta.

A lactose do leite apresentou maior média no grupo recebendo 20 gramas do premix com leveduras (4,48%), diferindo apenas do uso de 30 gramas do mesmo premix onde a concentração foi de 4,36%. Não houve diferença significativa no teor de lactose das vacas suplementadas com Premix20 e o grupo controle.

Jeong *et al.* (1998) com a suplementação de 40g/vaca/dia de cultura de leveduras para vacas holandesas no terço médio de lactação não encontram alteração na composição do leite (gordura, proteína e lactose), porém em nosso experimento houve um aumento na produção de lactose do leite quando foi adicionado 20 gramas de leveduras.

Bitencourt *et al.* (2011), em um rebanho com vinte vacas holandesas, fornecendo 1g de levedura viva (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077; Lallemand SAS, Toulouse, França) diluído em 9g de ostra ou 10g de farinha de ostras, em uma dieta à base de silagem de milho e alto teor de polpa cítrica peletizada observou aumento na produção de proteína e lactose no leite de vacas suplementadas com leveduras.

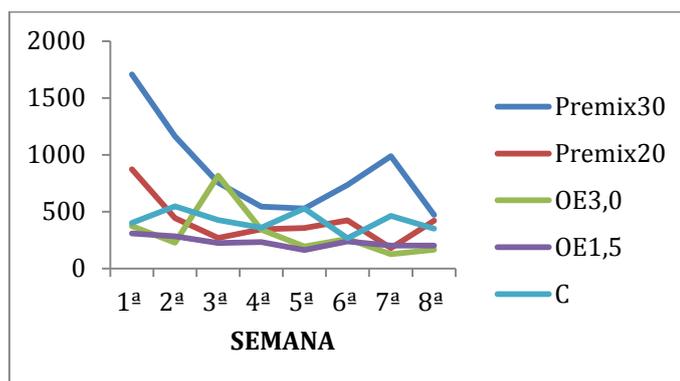
Ao fazer um experimento utilizando doze vacas mestiças Holandês x Zebu, alimentadas com volumoso de cana-de-açúcar adicionado de 1% de uréia e sulfato de amônio e concentrado à base de farelo de soja, milho, farelo de trigo, premix vitamínico e mineral, além da inclusão de diferentes níveis de orégano na dieta, concluiu que com a inclusão de 0,8% de orégano levou a uma redução no teor de lactose do leite. A redução de lactose pode ter ocorrido devido à maior passagem dos minerais para manter a osmolaridade do leite constante, assim como ocorre na mastite ou em situações de estresse onde há redução da coesão das junções entre as células epiteliais mamárias (LACERDA, 2012).

Benchaar *et al.* (2006) ao utilizarem quatro vacas holandesas em um experimento não observaram alteração nas concentrações de gordura, proteína e no teor de lactose, de vacas alimentadas com até 2g/dia do óleo essencial “Crina® Ruminants”.

Trinta e duas vacas leiteiras (16 da raça Holandês e 16 mestiços Holandês e Gir) foram utilizadas em um experimento onde os animais que receberam a mistura de 10g de extrato de orégano e 5,0g de extrato de chá verde (tratamento MIX) produziram leite com maior teor de lactose. O maior teor de lactose no leite produzido pelo grupo MIX pode estar relacionado à menor CCS, pois valores mais elevados de CCS estão relacionados com menor síntese de lactose, maior degradação da mesma ou passagem para o plasma (KOLLING, 2016).

Na CCS do leite a maior media encontrada foi com Premix30 sendo diferido dos demais tratamentos, sendo a menor media encontrada no tratamento OE1,5 (Gráfico 3).

Gráfico 3. Valores de CCS do leite de vacas durante o experimento



Fonte: Dettmer, 2016.

Premix30 = 30 gramas de premix contendo levedura; Premix20 = 20 gramas de premix contendo levedura; OE3,0 = 3,0 g de *blend* de óleos essenciais; OE1,5 = 1,5 g de *blend* de óleos essenciais; C = Controle.

Embora o maior valor de CCS foi obtido no leite de vacas que consumiram 30 gramas de leveduras, este tratamento mostrou-se o melhor dentre os demais pois foi capaz de reduzir 72, 51% do índice de CCS (1.706 para 469 mil células por ml). Os demais tratamentos reduziram em 52% (Premix20), 63% (OE3,0), 64,6% (OE1,5) e 12,71% (C).

Em um trabalho onde avaliaram o desempenho e a eficiência digestiva de vinte vacas leiteiras da raça holandesa suplementadas na dose de 10g/vaca/dia com levedura viva, cepa KA500 foi observado uma redução da contagem de células somáticas do leite de 302 para 190 mil células por ml (OLIVEIRA, 2008) sugerindo que houve efeito da levedura sobre o sistema imunológico das vacas, semelhante ao observado em garrotes (COLE *et al.*, 1992), bezerros em aleitamento (HEINRICHS; JONES; HEINRICHS, 2003; MAGALHÃES *et al.*, 2008) e vacas periparturientes (FRANKLIN *et al.*, 2005) assim como em nosso experimento.

Em um experimento com trinta e duas vacas leiteiras (16 da raça Holandês e 16 mestiços Holandês e Gir) os animais suplementados com a mistura de 10g de extrato de orégano e 5,0g de extrato de chá verde (tratamento MIX) produziram leite com maior teor de proteína e menor índice de CCS podendo ser justificado pela utilização de catequinas que proteger o tecido epitelial da glândula mamária de danos dos processos oxidativo auxiliando no controle e prevenção de mastite (KOLLING, 2016).

A partir de uma análise parcial do custo/benefício (Tabela 7), com o preço do leite pago ao produtor de R\$1,00, sabendo que com a adição de 3 gramas de óleos essenciais houve um aumento de 1,57 litros/vaca/dia e um custo de R\$0,30 centavos/vaca/dia, houve um lucro para o produtor de R\$1,27/dia comparando aos animais que não receberam nenhum aditivo.

Tabela 7. Análise parcial do custo/benefício dos aditivos para vacas em lactação.

Atributo	Premix30	Premix20	OE3,0	OE1,5	C
Produção de leite (L/dia)	24,76	25,60	28,25	25,18	26,68
Preço do leite (R\$)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Custo aditivo (R\$/dia)	1,05	0,70	0,30	0,15	-

Premix30 = 30 gramas de premix contendo levedura; Premix20 = 20 gramas de premix contendo levedura; OE3,0 = 3,0 g de *blend* de óleos essenciais; OE1,5 = 1,5 g de *blend* de óleos essenciais; C = Controle. L = litros.

6 CONCLUSÃO

O valor do ITU manteve-se acima de 72, considerado determinante para ocorrência de estresse térmico. Mesmo com o fornecimento dos aditivos, as frequências cardíacas e respiratórias encontram-se dentro dos parâmetros normais. A temperatura retal dos animais esteve acima dos valores fisiológicos, não diferindo entre os tratamentos. O uso de 3 gramas de um *blend* de óleos essenciais aumentou a produção de leite e a suplementação com 30 gramas do premix com leveduras reduziu o índice de CCS do leite, indicando sua inclusão na dieta de bovinos leiteiros no período de estresse térmico.

REFERÊNCIAS

- ABREU, A. S. de. **INDICADORES DO ESTRESSE TÉRMICO EM BOVINOS**. Seminário apresentado na disciplina bioquímica do tecido animal, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2011. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/abreu_estresse_termico.pdf>. Acesso em: 15/07/2016.
- ABUD, G.C. **LEVEDURA (*Saccharomyces cerevisiae*) NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS DA RAÇA HOLANDESA**. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal – São Paulo. 2010.
- ADAMS, A.L.; HARRIS, B.; VAN HORN, H.H.; WILCOX, C.J. Effects of varying forage types on milk production responses to whole cottonseed, tallow and yeast. **Journal of Dairy Science**, v.78, p.573-581, 1995.
- AGUIAR, I.S., BACCARI JUNIOR, F., GOTTSCHALK, F.A., TORNERO, M.T.T., WECHSLER, F.S. Produção de leite de vacas holandesas em função da temperatura do ar e do índice de temperatura e umidade. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 33,1996, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza, p. 617-19, 1996.
- AGUIAR, I. S.; BACCARI JUNIOR, F. Respostas fisiológicas e produção de leite de vacas holandesas mantidas ao sol e com acesso a sombra natural. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n.1, p.1-4, 2003.
- AGUIAR, I. S.; TARGA, L. A. Respostas termorreguladoras, armazenamento de calor corporal e produção de leite de vacas holandesas mantidas ao sol e com acesso à sombra natural. **Revista Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 14, n. 4, p. 9-17, 2001.
- AIRES, A. R. **Efeitos do tratamento com niacina protegida e levedura rica em cromo em vacas holandesas submetidas à estresse térmico**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2012.
- ANTUNES, M. M.; PAZINATO, P. G.; PEREIRA, R. A.; SCHNEIDER, A.; BIANCHI, I. CORRÊA, M. N. **Efeitos do estresse calórico sobre a produção e reprodução do gado leiteiro**. Pelotas, setembro de 2009.
- ARAÚJO, R. C. **Óleos essenciais de plantas brasileiras como manipuladores da fermentação ruminal in vitro**. Tese (Doutorado em Ciências). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2010.

ARIELI, A.; ADIN, G.; BRUCKENTAL, I. The effect of protein intake on performance of cows in hot environmental temperature. *Journal of Dairy Science*, p.620-629, 2004.

AZEVEDO, M.; PIRES, M.F.A.; STURNINO, H.M.; LANA, A.M.Q.; SAMPAIO I.B.; MONTEIRO J.B.N.; MORATO, L.E. Estimativa de níveis críticos superiores do índice de temperatura e umidade para vacas leiteiras ½, ¾ e 7/8 holandês – zebu em lactação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 34, n. 6, p. 2000-2008, 2005.

BACCARI JUNIOR, F. **Manejo ambiental da vaca leiteira em climas quentes**. Londrina: UEL, 2001.

BAJAGAI, Y.S. A mudança climática global e seus impactos no gado leiteiro. *Nepalês Veterinary Journal*, v. 30, p. 2-16, 2011.

BARBOSA, F.A.; FARIA, G. A. de; VILELA, H. Leveduras vivas na nutrição de bovinos (uma revisão). *Biosci. J.* Uberlândia, v, 20, n.1, p. 143-150, 2004.

BARBOSA, L. N. **Propriedade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas condimentares com potencial de uso como conservante em carne e hambúrguer bovino e testes de aceitação**. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Botucatu, 2010.

BAUMGARD, L.H.; ABUAJAMIEH, M.K.; STOAKES, S.K.; SANZ FERNÁNDEZ, M.V.; JOHNSON, J.S.; RHOAD, R.P. Feeding and Managing Cows to Minimize Heat Stress. Tri-State Dairy Nutrition Conference, **Proceedings...** April, p. 14-16, 2014.

BENCHAAAR, C.; PETIT, H.V.; BERTHIAUME, R.; WHYTE, T.D.; CHOUINARD, P.Y. Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production and milk composition in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 89, n. 11, p. 4352-4364, 2006.

BENCHAAAR, C.; CHOUINARD, P.Y. Short communication: assessment of the potential of cinnamaldehyde, condensed tannins, and saponins to modify milk fatty acid composition of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2009.

BITENCOURT, L. L. **Desempenho e eficiência alimentar de vacas leiteiras suplementadas com levedura viva**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais. 2008.

BITENCOURT, L.L.; SILVA, J. R. M.; OLIVEIRA, B. M. L. de; DIAS JÚNIOR, G. S.; LOPES, F.; SIÉCOLA JÚNIOR, S.; ZACARONI, O. de F.; PEREIRA, M. N. Diet digestibility and performance of dairy cows supplemented with live yeast. *Scientia Agricola*. 2011. Disponível em: <www.scielo.br/pdf/sa/v68n3/v68n3a05.pdf>. Acesso em: 15/07/2016.

BLANCK, R., VECHT, K., OGUEY, C.; WALL, E. The effects of supplementation with a blend of capsicum, cinnamaldehyde, and eugenol on milk production performance of dairy cows. **Conference Paper**, July, 2014.

BROWN-BRANDL, T.M., EIGENBERG, R.A., NIENABER, J.A., HAHN, G.L. Dynamic Response Indicators of Heat Stress in Shaded and Nonshaded Feedlot Cattle, Part 1: Analyses of Indicators. **Biosystems Engineering**, 90:451–462. 2005.

BRUNO, R.G.S.; RUTIGLIANO, H.M.; CERRI, R.L.; ROBINSONB, P.H.; SANTOS, J.E.P. Effect of feeding *Saccharomyces Cerevisiae* on performance of dairy cows during summer heat stress. **Animal Feed Science and Technology**. 2009.

CARDOZO, P. W.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A.; KAMEL, C. Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on *in vitro* rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. **Journal of Dairy Science**. v. 83, p. 2572-2579, 2005.

CALSAMIGLIA, S., BUSQUET, M., CARDOZO, P. W., CASTILLEJOS, L., & FERRET, A. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, p. 2580-2595, 2007.

CASTILLEJOS, L.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A.; LOSA, R. Effects of a specific blend of essential oil compounds and the type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from continuous culture system. **Ani. Feed Sci. and Tech.**, Amsterdam, v. 119, n. 1/2, p. 29-41, 2005.

COLE, N.A.; PURDY, C.W.; HUTCHESON, D.P. Influence of yeast culture on feeder calves and lambs. **Journal of Dairy Science**, v.70, p.1682-1690, 1992.

COLLIER, R. J.; HALL, L. W., RUNGRUANG, S.; ZIMBLEMAN, R. B.. **Quantifying Heat Stress and Its Impact on Metabolism and Performance**. Department of Animal Sciences University of Arizona. 2012.

COSTA, L. F. Leveduras na nutrição animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.1, n. 1, p.01-06, 2004.

COUTINHO, D. A.; BRANCO, A. F.; SANTOS, G. T. dos; OSMARI, M. P.; TEODORO, A. L.; DIAZ, T. G. Intake, digestibility of nutrients, milk production and composition in dairy cows fed on diets containing cashew nut shell liquid. **Acta Scientiarum**, v.36, n.3, Maringá, July/Sept. 2014.

CRUZ, L. V. da; ANGRIMANI, D. de S. R.; RUI, B. R.; SILVA, M. A. da. Efeitos do estresse térmico na produção leiteira: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Ano IX, n.16, janeiro de 2011.

CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 3. ed. p. 550-561. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

DALCIN, V. C. **Parâmetros fisiológicos em bovinos leiteiros submetidos ao estresse térmico**. Dissertação (Mestre em Zootecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

DALTRO, D. dos S. **Uso da termografia infravermelha para avaliar a tolerância ao calor em bovinos de leite submetidos ao estresse térmico**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. 2014.

DANN, H.M.; DRACKLEY, J.K.; McCOY, G.C.; HUTJENS, M. F.; GARRETT, J. E. Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.123-127, 2000.

DIAS, A. L.G. **Inclusão do produto da fermentação de levedura na dieta sobre o desempenho e metabolismo ruminal de vacas leiteiras**. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, PR, 2014.

DORMAN, H.J.D; DEANS,S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microb.**, Oxford, v. 88, p.308-316, 2000.

FERLAY, A.; MARTIN, B.; LERCH, M.; GOBERT, M.; PRADEL, P.; CHILLIARD, Y. Effects of supplementation of maize silage diets with extruded linseed, vitamin E and plant extracts rich in polyphenols, and morning v. evening milking on milk fatty acid profiles in Holstein and Montbe´liarde cows. **Animal**, v. 4, n. 4, p. 627–640, 2010.

FERREIRA, F.; PIRES, F. A.; MARTINEZ, M. L.; COELHO, S. G; CARVALHO, A. U; FERREIRA, P. M; FACURY FILHO, E. J; CAMPOS, W. E. Parâmetros fisiológicos de bovinos cruzados submetidos ao estresse calórico. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.5, p.732-738, 2006.

FERREIRA, L. C. B.; MACHADO FILHO, L. C. P.; HOTZEL, M. J.; ALVES, A. A.; BARCELLOS, A. de O. Respostas fisiológicas e comportamentais de bovinos a diferentes ofertas de sombra. **Resumos do II Encontro Pan-americano Sobre Manejo Agroecológico de Pastagens Pelotas/RS – 07 a 09 de abril de 2014**.

FRANKLIN, S. T.; NEWMAN, M. C.; NEWMAN, K. E.; MEEK, M. I. Immune parameters of dry cow fed mannan oligosaccharide and subsequent transfer of immunity to calves. **Journal of Dairy Science**. Champaign. v. 88, n.2, p. 766-775, 2005.

GIANNENAS, I.; BONOS, E.; CHRISTAKI, E.; FLOROU-PNERI, P. Essential oils and their applications in animal nutrition. **Medicinal & Aromatic Plants**, v. 2, n. 6, p. 1-12, 2013.

GRIFFIN, S. G.; WYLLIE, S. G.; MARKHAM, J. L.; LEACH, D. N. The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. **Flavour and Fragrance J.**, Oxford, v. 14, n. 5, p. 322-332, 1999.

HEAD, H.H. Management of dairy cattle in tropical and subtropical environments. In: Congresso Brasileiro de Biomaterologia, 2, **Anais...** SBBiomet, Jaboticabal, p.26-68, 1995.

HEINRICHS, A. J.; JONES, C.M.; HEINRICHS, B.S. Effects of mannan oligosaccharide or antibiotics in neonatal diets on health and growth of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.4064-4069, 2003.

HELANDER, I.M., ALAKOMI, H.L., LATVA-KALA, K., MATTILA-SANDHOLM, T., POL, I., SMID, E.J., GORRIS, L.G.M., VON WRIGHT, A. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. **J. of Agric. and Food Chemistry**, p. 3590–3595, 1998.

HIGGINBOTHAM, G.; MERRIAM, J.; DEPETERS, Ed.; SULLIVAN, J. Efeito de uma levedura viva o un cultivo de levedura sobre produción de leite y parámetros relacionados en vacas al inicio de la lactancia. **Safnews boletín informativo Ganado lechero**, n.1. Disponível em: <<http://www.lfa-america.com/safnews/pdfs/ganadolechero1corr.pdf>>. Acesso em: 20/06/2016.

HOSODA, K.; NISHIDA, T.; PARK, W. Y.; ERUDEN, B. Influence of *Mentha piperita* L. (peppermint) supplementation on nutrient digestibility and energy metabolism in lactating dairy cows. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Suweon, v. 18, n. 12, p. 1721-1726, 2005.

JEONG, H. Y., KIM, J. S., AHN, B. S., CHO, W. M., KWEON, U. G., HÁ, J. K., CHEE, S. H. Effect of direct-fed microbials (DFM) on milk yield, rumen fermentation and microbial growth in lactating dairy cows. Korea. **Journal of Dairy Science**, v.20, n.4, p. 247-252, 1998.

JESUS, E. F. de. **Óleo funcional na dieta de vacas leiteiras**. Tese (Doutor em Zootecnia) - Jaboticabal, São Paulo. 2015.

JONHSON, K. A.; JONHSON, D. E. Methane emissions from cattle. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 2483-2492, 1995.

KALMUS, P.; ORRO, T.; WALDMANN, A.; LINDJÄRV, R.; KASK, K. Effect of yeast culture on milk production and metabolic and reproductive performance of early lactation dairy cows. **Acta Veterinaria Scandinavica**, 2009.

KAMEL, C. A novel look at a classic approach of plant extracts. **Feed Mix**, v.18, n.6, p.19-24, 2000.

KAMRA, D. N. Rumen microbial ecosystem. **Current Science**, v. 89, n. 1, p.124 -135, 2005.

KOLLING, G. J. **Extratos de orégano e chá verde como aditivos para bovinos leiteiros**. Tese (Doutorado em Zootecnia). Programa de Pós-graduação em Zootecnia, —Universidade Feral do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

KUNG JUNIOR, L.; KRECK, E. M.; TUNG, R. S.; HESSION, A. O.; SHEPERD, A. C.; COHEN, M. A.; SWAIN, H. E.; LEEDLE, J. A. Z. Effects of a live yeast culture and enzymes on in vitro ruminal fermentation and milk production of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 9, p. 2045-2051, 1997.

KUNG JUNIOR, L., WILLIAMS, P.; SCHMIDT, R.J.; HU, W. A blend of essential plant oils used as an additive to alter silage fermentation or used as a feed additive for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 12, p. 4793-4800, 2008.

LACERDA, E. C. Q. Efeito da inclusão de orégano na dieta de vacas leiteiras sobre a qualidade do leite. Dissertação (Especialização em Engenharia de Alimentos) Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2012.

LANGHOUT, P. New additives for broiler chickens. **Feed Mix-The International Journal on Feed, Nutrition and Technology**, v. 18, p. 24-27, 2000.

MAJDOUB-MATHLOUTHI, L.; K KRAIEM, K.; LARBIER M. Effects of feeding *Saccharomyces cerevisiae* Sc 47 to dairy cows on milk yield and milk components, in Tunisian conditions. **Livestock Research for Rural Development**, v. 21, maio de 2009. Disponível em: <<http://www.lrrd.org/lrrd21/5/majd21073.htm>>. Acesso em: 20/06/2016.

MAGALHÃES, V.J.A.; SUSCA, F.; LIMA, F.S.; BRANCO, A.F.; YOON, I.; SANTOS, J. E. Effect of feeding yeast culture on performance, health, and immunocompetence of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.1497-1509, 2008.

MARÓSTICA JUNIOR., M.R.; PASTORE, G.M. Production of R-(+)- α -terpineol by the transformation of limonene from orange essential oil, using cassaca waste as medium. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 101, n. 1, p. 345-350, 2007.

MARTELLO, L. S. **Interação animal-ambiente: efeito do ambiente climático sobre as respostas fisiológicas e produtivas de vacas Holandesas em free-stall**. Tese (Doutorado em Qualidade e Produtividade Animal) - Universidade de São Paulo. Pirassununga – SP, 2006.

MARTIN, S. A.; NISBET, D. J. Effect of direct-fed microbials on rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.1736-1744, 1992.

MARTINS, M. F.; SARAN NETTO, A; LEME, P. R.; PINHEIRO, M. G.; TORRENT, J.; WELTER, K. C.; ARRUDA, I. Effects of functional oils and monensin supplementation on ruminal fermentation and milk production and composition in Holstein cows under heat stress. **Journal of Animal Science**, v. 98, Suppl.2, (Abstr.), 2015.

MATARAZZO, S.V. **Eficiência do sistema de resfriamento adiabático evaporativo em confinamento do tipo freestall para vacas em lactação**. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

MELLOR, S. Alternatives to antibiotic. **Pig Progress**, v.16, p.18-21, 2000.

McEWAN, N. R.; GRAHAM, R. C.; WALLACE, R. J.; LOSA, R.; WILLIAMS, P.; NEWBOLD, C. J. Effect of essential oils on protein digestion in the rumen. **Reproduction Nutrition Development**, v. 42, p. S65-S66, 2002

MORAES, J. B. de. **Termorregulação e adaptabilidade climática de caprinos no semiárido piauiense**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) –Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2010.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 4050-4063, 2009.

MOURÃO, R. de C.; PANCOTI, C. G.; FERREIRA, A. L.; VIVENZA, P. A. D.; VALENTINI, P. V.; BORGES, A. L. da C. C.; SILVA, R. R. e . Aditivos alimentares para vacas leiteiras. **Revista eletrônica Nutritime**. Artigo 179, v. 9, n.05, p. 2011 – 2040. 2012.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, **Nutritional Requirements of Dairy Cattle**. Washington D.C.: National Academy Press, 2001. 370 p.

NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J.; MCINTOSH, F.M. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. **British Journal of Nutrition**, v.76, p.249-261, 1996.

NOCEK, J. E.; KAUTZ, W. P. Direct-fed microbial supplementation on ruminal digestion, health, and performance of preand postpartum dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 1, p. 260-266, 2006.

OLIVEIRA, B. M. L.; BITENCOURT, L. L.; SILVA, J.R.M.; DIAS JÚNIOR, G.S.; BRANCO, I.C.C.; PEREIRA, R.A.N.; PEREIRA, M.N. Suplementação de vacas leiteiras com *Saccharomyces cerevisiae* cepa KA500. In: XVI Congresso de Pós-Graduação da Universidade Federal de Lavras, 2007, Lavras, **Anais...** Minas Gerais, 2007.

OLIVEIRA, B.M.L.de. **Suplementação de vacas leiteiras com SC cepa K500**. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2008.

OLIVEIRA, H. B. N. **Óleos essenciais na dieta de vacas em lactação**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Minas Gerais, 2013.

PAREDE, E. H.; DOANE, P.H.; DONKIN, S.S.; BRAVO, D. The effects of supplementation with a blend of cinnamaldehyde and eugenol on feed intake and milk production of dairy cows. **Journal of Dairy Science**. Setembro 2014.

PEGORER, M. F. **Influência do estresse calórico na reprodução de vacas leiteiras de alta produção**. Tese (Doutorado em Reprodução Animal)- Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2006.

PEGORINI, L. N. C. **Efeitos do estresse térmico em rebanhos leiteiros de alta produção**. Trabalho de conclusão de curso (Graduação) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

PERISSINOTTO, M.; MOURA, D. J. de; MATARAZZO, S. V.; SILVA, I. J. O. da, LIMA, K. A. O. de. Efeito da utilização de sistemas de climatização nos parâmetros fisiológicos do gado leiteiro. **Engenharia Agrícola**, v. 26, n. 3, p. 663-671, Jaboticabal, 2006.

PERISSINOTTO, M.; MOURA, D. J. de. Determinação de conforto térmico de vacas leiteiras utilizando a mineração de dados. **BioEng**, Campinas, 117-126, maio/ago, 2007.

PIRES, M. F. A; CAMPOS, A. T. de; Modificações ambientais para reduzir o estresse calórico em gado de leite. **Comunicado técnico 42**. Juiz de Fora, MG Dezembro, 2004.

POPOVIC, Z.; SINOVEC, Z.; VUKUCVRANJES, M.; VESELINOVIC, S.; IVKOV, O.; CUPIC, Z.; ILISKOVIC, V. Organic-bound microelements and live cells of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) of dairy cows. **Veterinarski Glasnik**, v. 52, n. 7, p.385-394, 1998.

RAVEN, P.H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. **Biologia vegetal**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 830p., 2007.

REZA-YAZDI, K.; FALLAH, M.; KHODAPARAST, M.; KATEB, F.; HOSSEINI-GHAFFARI, M. Effects of Specific Essential Oil Compounds on, Feed Intake, Milk Production, and Ruminal Environment in Dairy Cows during Heat Exposure. **World Academy of Science**, Engineering and Technology International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering, v. 8, n. 12, 2014.

RIVAROLI, D. C. **Níveis de óleos essenciais na dieta de bovinos de corte terminados em confinamento**: desempenho, características da carcaça e qualidade da carne. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 2014.

SALVATI, G. G. de S. **Suplementação de vacas leiteiras com leveduras vivas durante o verão**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais. 2014.

SANTOS, M. B.; ROBINSON, P. H.; WILLIAMS, P.; LOSA, R. Effects of addition of an essential oil complex to the diet of lactating dairy cows on whole tract digestion of nutrients and productive performance. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 157, n. 1/2, p. 64-71, 2010.

SCHINGOETHE, D. J.; LINKE, K. N.; KALSCHEUR, K. F.; HIPPEN, A. R.; RENNICH, D. R.; YOON, I. Feed Efficiency of Mid-Lactation Dairy Cows Fed Yeast Culture During Summer. **Journal of Dairy Science**, p. 4178-4181, 2004.

SERBESTER, U.; ÇINAR, M.; CEYHAN, A.; ERDEM, H.; GÖRGÜLÜ, M.; KUTLU, H. R.; BAYKAL ÇELİK, L.; YÜCELT, Ö.; CARDOZO, P. W. Effect of essential oil combination on performance, milk composition, blood parameters and pregnancy rate in early lactating dairy cows during heat exposure. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, p.556-563, 2012.

SHWARTZ, G.; RHOADS, M. L.; VAN BAALE, M. J.; RHOADS, R. P.; BAUMGARD, L. H. Effects of a supplemental yeast culture on heat-stressed lactation Holstein cows. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v 92, n.3, p.935-942, 2009.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos**: métodos químicos e biológicos. 3. ed. Viçosa: UFV, 235 p. 2002.

SILVA, R. G. Termorregulação. **In: Introdução à bioclimatologia animal**. São Paulo: Nobel, p.119-58. 2000.

SILVA, R. G. da; MORAIS, D. A. E. F.; GUILHERMINO, M.M. Evaluation of thermal stress indexes for dairy cows in tropical regions. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.1192-1198, 2007.

SILVA, R. de A. G. da. **Marcadores do estresse calórico**. Seminário apresentado na disciplina bioquímica do tecido animal, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.

SILVA, T.P.D.; SOUZA JUNIOR, S.C. Produção de leite de vacas submetidas a diferentes períodos de exposição a radiação solar no sul do Piau. **Revista Agrarian**, Dourados, v.6, n.21, p.320-326, 2013.

SODER, K.J.; HOLDEN, L.A. Dry matter intake and milk yield and composition of cows fed yeast prepartum and postpartum. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.605-610, 1999.

SOLTAN, M. A. E. K.; SHEWITA, R. S.; AL-SULTAN, S. I. Influence of Essential Oils Supplementation on Digestion, Rumen Fermentation, Rumen Microbial Populations and Productive Performance of Dairy Cows. **Asian Journal of Animal Sciences**, n. 12, 2009.

SOSSIDOU, E. N.; TSIPLAKOU, E.; ZERVAS, G. OPTIONS FOR MANAGING LIVESTOCK PRODUCTION SYSTEMS TO ADAPT TO CLIMATE CHANGE. **Journal of Earth Science and Engineering**. Jul 2014.

SOUZA, R. C. de. **Aditivos microbianos de inclusão direta em dietas de vacas leiteiras: parâmetros da fermentação ruminal, produção e composição do leite**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

SPANGHERO, M.; ROBINSON, P.H.; ZANFI, C.; FABBRO, E. Effect of increasing doses of a microencapsulated blend of essential oils on performance of lactating primiparous cows. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 153, n. 1/2, p. 153-157, 2009.

STAPLES, C.R. Alimentação de vacas leiteiras sob estresse térmico. In: **Anais do 13º Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos**. Uberlândia: Conapex Jr, p.42-58. 2009.

SUÑÉ, R.W., MUHLBACH, P.R.F. Efeito da adição da cultura de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) Cepa 1206 na produção e qualidade do leite de vacas holandesas em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.6, p.1248-1252, 1998.

TAGER, L.R.; KRAUSE, K.M. Effects of essential oils on rumen fermentation, milk production, and feeding behavior in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p.2455-2464, 2011.

TASSOUL, M.D.; SHAVER, R. D. Effect of a mixture of supplemental dietary plant essential oils on performance of periparturient and early lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 4, p. 1734-1740, 2009.

THOM, E.C. The discomfort index. **Weatherwise**, Washington, v.12, p.57-9, 1958.

TONISSI, R. H.; GOES, B. Leveduras e enzimas na alimentação de ruminantes. **Caderno Técnico de Veterinária e Zootecnia**, Jaboticabal: Editora Funep, 2004. p. 46-66.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in ration to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p.3583-3597, 1991.

VENDRAMINI, T. H. A. **Avaliação de Diferentes Aditivos na Alimentação de Vacas Leiteiras**. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

WALL, E. MAURIN, J. Feeding strategies and heat stress in dairy cows. **All about feed**, 20 de maio de 2016.

WALLACE, R.J. Ruminal microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems. **Journal of Animal Science**, v.72, p.2992-3003, 1994.

WALLACE, L. J.; NEWBOLD, C. J. **Microbial feed additives for ruminants**. Dezembro de 2007. Disponível em:
<www.researchgate.net/publication/229646224_Microbial_feed_additives_for_ruminants>.
Acesso em: 10/05/2016.

WEST, J.W. Physiological effects of heat stress on production and reproduction. In: Tri-state dairy nutrition conference, 2002, Fort Wayne. **Proceedings...** Fort Wayne: Eastridge, M.D., p.1-9. 2002.

WOHLT, J. E.; CORCIONE, T. T.; ZAJAC, P. K. Effect of yeast on feed intake and performance of cows fed diets based on corn silage during early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 5, p. 1345-1352, 1998.

YALÇIN, S.; YALÇIN, S.; LATA, P.; GÜRDAL, A. O.; BAGCI, C.; ELTAN, O. The Nutritive Value of Live Yeast Culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and Its Effect on Milk Yield, Milk Composition and Some Blood Parameters of Dairy Cows. Asian-Aust. **Journal of Dairy Science**, outubro 2011.

ZHU, W. ; ZHANG, B. X.; YAO, K.Y.; YOON, I.; CHUNG, Y. H.; WANG, J. K. ; LIU, J. X. Effects of Supplemental Levels of *Saccharomyces cerevisiae* Fermentation Product on Lactation Performance in Dairy Cows under Heat Stress. **Australasian Journal of Animal Sciences**. On-line Publicação: 10 de setembro de 2015.

ANEXOS

ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO DO CEUA



COMITE DE ÉTICA NO USO DE
ANIMAIS



CARTA DE APROVAÇÃO

O Comitê de Ética no Uso de Animais – UNICRUZ analisou o protocolo de pesquisa:

Título: **RESPOSTA DO USO DE LEVEDURAS E ÓLEOS NA DIETA DE VACAS HOLANDÊS EM LACTAÇÃO NO PERÍODO DE ESTRESSE TÉRMICO**

Protocolo nº: 007/16

Pesquisador Responsável: **Jorge Damián Stumpfs Diaz**

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos, por não haver qualquer tipo de injúria aos animais da pesquisa. Toda e qualquer alteração do Projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente a este Comitê.

Cruz Alta, 12 de Julho de 2016.

Luiz Felipe Kruel Borges

Vice-coordenador do CEUA-UNICRUZ