UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

MAURÍCIO FURLAN MARTINS

**Inclusão de óleo funcional e monensina na dieta de vacas primíparas e
lactantes da raça Holandês no verão**

Pirassununga

2017

MAURÍCIO FURLAN MARTINS

Inclusão de óleo funcional e monensina na dieta de vacas primíparas e lactantes da raça Holandês no verão

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Arlindo Saran Netto

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Fm379i Furlan Martins, Mauricio
i Inclusão de óleo funcional e monensina na dieta
de vacas primíparas e lactantes da raça Holandês no
verão / Mauricio Furlan Martins ; orientador
Arlindo Saran Netto. -- Pirassununga, 2017.
72 f.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia
de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. Bem estar. 2. Nutrição Animal. 3. Avaliação de
alimentos. 4. Fisiologia. I. Saran Netto, Arlindo,
orient. II. Título.

MAURÍCIO FURLAN MARTINS

Inclusão de óleo funcional e monensina na dieta de vacas primíparas e lactantes da raça Holandês no verão.

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Banca Examinadora:

Arlindo Saran Netto 1º Examinador – Presidente da Banca Examinadora

Professor Dr. Faculdade, de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo - Orientador (a)

Nome completo do 2º Examinador

Prof. + titulação (caso tenha) + instituição a que pertence

Nome completo do 3º Examinador

Prof. + titulação (caso tenha) + instituição a que pertence

Nome completo do 4º Examinador

Prof. + titulação (caso tenha) + instituição a que pertence

Nome completo do 5º Examinador

Prof. + titulação (caso tenha) + instituição a que pertence

DEDICATÓRIA

A minha família que sempre me apoiou, em todos os momentos da minha vida e me amar incondicionalmente.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Claribel e Ari, pelo apoio, financeiro e emocional, uma vez que sempre permanecem presentes em minha vida.

Aos meus irmãos, Luciano, Vergílio e sobrinhos Beatriz, Lucas e Natã, pelo apoio e ajuda de sempre.

À minha avó Thereza (In *memoriam*) pelas orações voltadas a mim e seu amor incondicional.

Aos meus tios Dice, Mário e primos Kátia, Vitor e Luan pela força e apoio em todos os momentos.

Aos meus primos, Roberto e Solange, que sempre acreditaram em mim, torcendo por minhas vitórias.

À respectiva namorada, Isadora, muitíssimo obrigado por dividir sua vida comigo e ajudar com a tese e no experimento a campo, um anjo em minha vida.

Em especial ao meu orientador Professor Arlindo, que aceitou me orientar de olhos fechados, à sua dedicação e paciência, durante todo meu doutorado, por todo ensinamento, permitindo meu crescimento pessoal e profissional.

Ao Professor Paulo Leme que me proporcionou grande conhecimento e me ajudou a desenvolver este projeto e a Doutora Maria da Graça pelas contribuições neste projeto na parte de estresse calórico.

Ao Professor Dr. Mc Fadden por me orientar na Universidade de Missouri- EUA o qual me proporcionou muito ensinamentos.

À minha “teacher” de inglês, Vanessa, por me ensinar um modo novo de aprender, de uma forma divertida, que me ajudou muito no meu intercâmbio.

Aos funiconários do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa Ana, Gilberto, Donizete, Creuza, Mariana e a pesquisador e Doutora Luciandra que corroboraram com o experimento. Também aos estagiarios Carmo, Vitor, Barbara, Mellory e Gustavo que foram de grande importancia nos períodos de coletas.

Os meu amigos de doutorado, Gabriela, Tarley, Rafael (Ceará), Daniela, Ana, Melina, Thiago (Severino), Maria, Viviane, Ricardo, Diane, Leonardo, Léa, Camila, Beatriz, Rejane, Nara, Carolina Tobias, Carlos Eduardo (Cadu), e Taís. Obrigado por permitirem tê-los como amigos, me proporcinando momentos inesquecíveis, sendo eles de alegria ou tristeza. Vocês são especiais.

Aos amigos de graduação Cristiane, Maria Fernanda, Renata, Teresa, Nataly e Guilherme pelos momentos de descontração durante a graduação, mestrado e doutorado.

Aos amigos de intercambio João Guilherme, Francine, Guilherme, Mariana, Monica, Thiago, Sofia, Juliano, Vivian, Tim, Estela, Camila, Eduardo, Alvaro, Ricardo, João (Joãozinho), Livia, Cintia, Morgan, Alejandro, Thaís, André, Barbara, Tifany, Marcos, Koby, Caroline e Nicole que me ajudaram nesse período e também me muito ensinaram e tornaram esse período da minha vida inesquecível.

À Katiele e Brenda amigas que auxiliaram muito com nossas conversas e apoio no experimento.

Aos professores do Departamento de Zootecnia da FZEA/USP, pela contribuição na minha formação.

À todos funcionários do ZAZ e da secretaria de Pós graduação..

Aos animais (vacas) Lambada, Macaúba, Macedônia, Malicia, Malva, Milka, Naia e Nervosa, pelo estresse e ensinamentos que só é possível observando-as no dia a dia.

Aos irmãos de República (Pira Models, minha república), Eduardo, Rodrigo, Flávio Perna, Flávio, Caio, Matheus, João, Vitor e Carlos que mesmo estando longe sempre me apoiaram e aguentaram firme meus momentos difíceis.

À CNPq pela bolsa do programa Ciência sem Fronteira pela oportunidade de realizar meu sonho de conhecer outro país e cultura.

À CAPES pelo auxílio financeiro no período do doutorado.

A empresa Oligobasic que proporcionou o experimento e auxílio financeiro para realização do experimento.

De maneira especial, à DEUS, por colocar pessoas tão especiais em minha vida, permitindo superar todas as dificuldades e atingir meu objetivos.

MUITO OBRIGADO A TODOS!

*“Nothing Is Permanent
In This Wicked World,
Not Even Our Troubles.”*

Charlie Chaplin

RESUMO

MARTINS, M. F. **Inclusão de óleo funcional e monensina na dieta de vacas primíparas e lactantes da raça Holandês no verão**. 2017. 68f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

O objetivou-se com este trabalho foi avaliar a influência de óleos funcionais e monensina na dieta de vacas no verão sobre o consumo de matéria seca, parâmetros produtivos, sanguíneos, fisiológicos e hormonais, fermentação ruminal e a digestibilidade aparente total dos nutrientes. O projeto foi conduzido no Centro de Análise e Pesquisa Tecnológica do Agronegócio (APTA), no setor de Bovinos de Leite, Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP. Foram utilizadas oito vacas da raça Holandesa primíparas, lactantes ($68 \pm 3,46$ dias de lactação e $511,56 \pm 65,38$ pesos vivos), distribuídas em dois quadrados latinos contemporâneos, em arranjo fatorial 2x2, ou seja, dieta sem inclusão de aditivo, dieta com inclusão de óleo funcional (OF, 0,5 g/kg MS), dieta com inclusão de monensina (MO, 30 mg/kg MS) e dieta com inclusão de óleo funcional e monensina, nas mesmas quantidades já descritas. As vacas foram mantidas a temperatura média de $25,31^{\circ}\text{C} \pm 0,26$; umidade relativa do ar de $71,24\% \pm 1,03$ e índice de temperatura e umidade de $73,85 \pm 0,14$. No presente experimento não observou interação entre os tratamentos, porém os animais com OF apresentaram maior CMS e a inclusão de MO diminuiu esse parâmetro. Se tratando dos parâmetros fermentativos, a inclusão de MO aumentou a concentração de propionato e isovalérico, consecutivamente sua proporção e diminuiu a relação acético: propiônico, OF não alterou a fermentação ruminal. Os parâmetros bioquímicos apresentaram interação na quantidade de ácidos graxos não esterificados (NEFA), sendo que, a não inclusão de aditivos foi maior sua concentração do que a inclusão de ambos os aditivos. Quando se tratando da digestibilidade dos nutrientes, não houve diferença significativa para nenhuma das frações. Para aos parâmetros produtivos, a produção de leite, produção de leite corrigida para 3,5% de gordura e quantidade de gordura ocorreu interação entre os tratamentos, onde a dieta com OF na ausência de monensina aumentou esses parâmetros e quando incluído MO diminuiu. Já dieta com somente MO funcional

diminuiu, os mesmos parâmetros, e a presença dos dois aditivos aumentou. A quantidade de lactose, proteína e o teor de proteína foram maiores para o tratamento incluído OF. A inclusão de MO diminuiu os teores de gordura e sólidos totais, porém esse tratamento apresentou maior eficiência produtiva. Nos parâmetros fisiológicos a quantidade de tiroxina (T_4), e frequência respiratória (FR) também foi maior quando incluído OF comparado sem inclusão de aditivos. Já os demais parâmetros fisiológicos e hormonais (temperatura retal e do pelame e triiodotironina, T_3) não foram afetados. . O óleo funcional demonstrou eficácia em melhorar a produção de leite e consumo em animais submetidos a estresse calórico crônico sem alterar a fermentação ruminal e digestibilidade, porém aumentou a FR e o T_4 . Entretanto, a monensina foi capaz de alterar a fermentação sem alterar o consumo e os parâmetros fisiológicos e hormonais, também sendo mais eficiente produtivamente.

Palavras chave: cortisol, digestibilidade, estresse por calor, fermentação ruminal, Tiroxina

ABSTRACT

MARTINS, M. F. **Inclusion of functional oil and monensin in the diet of primiparous and lactating Holstein cows in the summer**. 2017. 68f. Thesis (PhD) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

The objective of this work was to evaluate the influence of functional oils and monensin in the diet of cows submitted in the summer on dry matter intake, and how this influence affected their blood as well as their productive, physiological and hormonal parameters, ruminal fermentation and apparent digestibility of feed. The project was conducted in the Milk Cattle Sector at the Agribusiness Technological Research and Analysis Center (APTA), Institute of Animal Science, Nova Odessa, SP. Eight primiparous, lactating Holstein cows (68 ± 3.46 days of lactation and 511.56 ± 65.38 live weights) were used and distributed in two contemporary Latin squares, in a 2x2 factorial arrangement. They received four diets one without the inclusion of additives, one with functional oil (OF, 0.5 g / kg DM), one with monensin (MO, 30 mg / kg DM), and one with both functional oil and monensin with the same quantities as described. The cows were submitted to a mean temperature of $25.31^{\circ}\text{C} \pm 0.26$ with a relative humidity of $71.24\% \pm 1.03$ and a temperature and humidity index of 73.85 ± 0.14 . In the present experiment, there was no interaction between the treatments, but the animals with + OF presented higher CMS and + MO decrease this parameter. When treating the fermentation parameters with MO, there was an increase in the amount of propionate and isovaleric, however, a decrease in the acetic: propionic ratio occurred. At the same time, only the proportion of propionate increased when treated with MO while isovaleric and acetic proportions remained the same, and the inclusion of OF did not alter the ruminal fermentation. The biochemical parameters showed interaction in the amount of non-esterified fatty acids (NEFA), and the without additives the concentration of NEFA was higher than with the inclusion of both additives. When it came to nutrient digestibility, there was no significant difference for any of the fractions. Regarding the productive parameters concerning milk production, this adjusted to 3.5% fat and the amount of fat experienced interaction between treatments of OF and MO; the diet with OF in the absence of monensin saw an increase in these productive parameters and when MO was included, a decrease occurred. The diet with only functional MO saw a decrease in the productive parameters, while this increased in the presence of both additives. The amount of lactose, protein, and protein content were higher in the treatments including OF. The inclusion of MO decreased the total fat and solid contents,

but this treatment presented a higher productive efficiency. In the physiologic parameters the thyroxin (T4). The respiratory rate (RR) was also higher when including OF in comparison without additives, while the other physiological and hormonal parameters (rectal temperature, skin and triiodothyronine, T3) were not affected. Functional oil showed efficacy in improving milk production and consumption in animals submitted to chronic caloric stress without altering rumen fermentation and digestibility, but increased RF and T4. However, monensin was able to alter the fermentation without altering the consumption and the physiological and hormonal parameters, also being more efficient productively.

Key words: cortisol, digestibility, heat stress, ruminal fermentation, thyroxine

Lista de Figuras

Figura 1 – Valores médios, mínimos e máximos das temperaturas (°C) diárias durante o período experimental.	38
Figura 2 – Valores médios, mínimos e máximos da umidade relativa do ar (%) diárias durante o período experimental.	39
Figura 3 – Valores médios, mínimos e máximos do Índice de temperatura e úmida (ITU) diárias durante o período experimental.	39
Figura 4. Esquema dos dias experimentais de cada período	42
Figura 5 – Efeito de interação entre Óleo Funcional (-OF= sem inclusão de Óleo Funcional e +OF= com inclusão de Óleo Funcional) e Monensina (-MO= sem inclusão de Monensina, +MO= com inclusão de Monensina) na quantidade de NEFA (mg/dL) de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão.	52
Figura 6 – Tendência de interação entre Óleo Funcional (-OF= sem inclusão de Óleo Funcional e +OF= com inclusão de Óleo Funcional) e Monensina (-MO= sem inclusão de Monensina, +MO= com inclusão de Monensina) na quantidade de VLDL (mg/L) de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão.	53
Figura 7 – Efeito de interação entre Óleo Funcional (-OF= sem inclusão de Óleo Funcional e +OF= com inclusão de Óleo Funcional) e Monensina (-MO= sem inclusão de Monensina, +MO= com inclusão de Monensina) na produção de leite (kg) de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão.	58
Figura 8 – Efeito de interação entre Óleo Funcional (-OF= sem inclusão de Óleo Funcional e +OF= com inclusão de Óleo Funcional) e Monensina (-MO= sem inclusão de Monensina, +MO= com inclusão de Monensina) na produção de leite corrigida a 3,5% de gordura (kg) de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão.	59
Figura 9 – Efeito de interação entre Óleo Funcional (-OF= sem inclusão de Óleo Funcional e +OF= com inclusão de Óleo Funcional) e Monensina (-MO= sem inclusão de Monensina, +MO= com inclusão de Monensina) na quantidade de gordura (kg) de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão.	59

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Descrição dos dados ambientais no período experimental	38
Tabela 2 – Esquema do delineamento em quadrado latino 4x4 replicado com arranjo fatorial 2x2, sendo: -OF= sem inclusão de Óleo Funcional, +OF= com inclusão de Óleo Funcional, -MO= sem inclusão de Monensina, +MO= com inclusão de Monensina, com cada período composto por 21 dias de adaptação e 7 de colheita de dados.....	40
Tabela 3 – Proporções de ingredientes e composição química da silagem, concentrado e da dieta experimental, expressas em porcentagem da matéria seca (% MS)	41
Tabela 4 – Esquema da análise de variância para delineamento em quadrado latino 4x4 replicado com arranjo fatorial 2x2.....	47
Tabela 5 – Médias e erros padrões das médias dos parâmetros de consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria seca em relação ao peso vivo (CPV) e consumo de matéria seca em relação ao peso metabólico (CPM) de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão.....	48
Tabela 6 – Médias e erros padrões das médias dos parâmetros de fermentação ruminal de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão	50
Tabela 7 – Médias e erros padrões das médias dos parâmetros bioquímicos de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão.....	51
Tabela 8 – Médias e erros padrões das médias dos parâmetros de digestibilidade de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão.....	54
Tabela 9 – Médias e erros padrões das médias dos parâmetros de produção e composição de leite de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão	56
Tabela 10 – Médias e erros padrões das médias dos parâmetros fisiológicos de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão.....	60

Lista de Abreviaturas

% MS	Porcentagem da matéria seca
%	Porcentagem
%EE	Porcentagem de extrato etéreo
%FDN	Porcentagem de fibra em detergente neutro
%MM	Porcentagem de matéria mineral
%PB	Porcentagem de proteína bruta
+MO	Com inclusão de Monensina
+OF	Com inclusão de Óleo Funcional
µg/dL	Micrograma por decilitro
µg/mL	Micrograma por mililitro
$\frac{1}{8}$	Um oitavo
$\frac{1}{4}$	Um quarto
$\frac{1}{2}$	Meio
$\frac{3}{4}$	Três quartos
$\frac{7}{8}$	Sete oitavos
ACTH	Hormônio liberador de adrenocorticotrófico
AGCCtotais	Ácidos graxos de cadeia curta totais
ALBU	Albumina
APTA	Centro de Análise e Pesquisa Tecnológica do Agronegócio
Ca	Cálcio
cal/g de MS	Caloria por quilo de matéria seca
CCS	Contagem de célula somáticas
CEL	Celulose
CMS	Consumo de matéria seca
CNF	Carboidratos Não Fibrosos
CO ₂	Dióxido de carbono
COLE	Colesterol
CPM	Consumo de matéria seca em relação ao peso metabólico
CPV	Consumo de matéria seca em relação ao peso vivo
CREA	Creatinina
CRH	Hormônio liberador de corticotrofinas
CT	Carboidratos totais
DCa	Digestibilidade do cálcio
DCEL	Digestibilidade da celulose
DCNF	Digestibilidade do carboidrato não fibroso
DEB	Digestibilidade da energia bruta
DEE	Digestibilidade do extrato etéreo
DENN	Digestibilidade de extrato não nitrogenado
DFDA	Digestibilidade de fibra solúvel em detergente ácido
DFDN	Digestibilidade de fibra solúvel em detergente neutro
DMM	Digestibilidade da matéria mineral
DMOr	Digestibilidade da matéria orgânica
DMS	Digestibilidade da matéria seca
DNDT	Digestibilidade dos nutrientes digestíveis totais
DP	Digestibilidade do fósforo
DPB	Digestibilidade da proteína bruta
EB	Energia bruta
EE	Extrato Étereo
ENN	Extrato Não Nitrogenado
EP	Eficiência Produtiva
EPM	Erro padrão da média
ESD	Extrato Seco Desengordurado
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
FR	Frequência respiratória
g/animal/dia	Grama por animal por dia
g/dia	Grama por dia

g/kg MS	Grama por quilo de matéria seca
g/kg	Grama por quilo
GGT	Gama Glutamyltransferase
GLIC	Glicose
Gor	Gordura
H	hora
H ₂	Hidrogenio
HCO ₃	Bicarbonato
HDL	Lipoproteínas de Alta Densidade
HEMICEL	Hemicelulose
HHT	Hipotálamo-hipófise-tireoide
ITU	Índice de temperatura e umidade
IZ	Instituto de Zootecnia
K	Potássio
kg de leite/dia	Quilo de leite por dia
Kg	Quilograma
Lac	Lactose
LDL	Lipoproteínas de Baixa Densidade
Lig	Lignina
m	Metros
Máx	Máximo
Mcal/kg de MS	Megacaloria por quilo de matéria seca
mg	Miligrama
mg/dia	Miligrama por dia
mg/kg	Miligrama por quilo
mg/kg MS	Miligrama por quilo de matéria seca
mg/kg	Miligrama por quilo
mg/L	miligrama por litro
Mín	Mínimo
mL/min	mililitro por minuto
MM	Matéria Mineral
mM	miliMol
mM/L	miliMol por litro
MO	Monensina
-MO	Sem inclusão de Monensina
Mor	Materia organica
mov/min	Movimentos por minutos
MS	Matéria seca
N	Nitrogenio
Na	Sódio
NDT	Nutrientes Digestiveis Totais
NEFA	Acidos Graxos Não Esterificados
ng/mL	Nanograma por mililitro
NITRO	Nitrogenio
N-NH ₃	Nitrogênio amoniacal
NU	Nitrogênio Uréico.
°C	Graus centigrados
OF	Óleo Funcional
-OF	Sem inclusão de Óleo Funcional
P	Fósforo
PB	Proteína Bruta
PL	Produção de Leite
PLC	Produção de Leite Corrigida para 3,5% de gordura
ppm	Partes por milhão
PROT	Proteína
S	South
SP	São Paulo
ST	Sólidos Totais
T°C	Temperatura do ar em graus centigrados
T ₃	Triiodotironina

T ₄	Tiroxina
TP	Temperatura do pelame
TR	Temperatura retal
TRIG	Triglicerídeos Totais
TSH	Hormônio tireotrófico
UE	União Europeia
UI	Unidade internacional
UR	Umidade relativa do ar
VLDL	Lipoproteínas de Muito Baixa Densidade
W	West

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	20
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	22
2.1 Temperatura, Umidade e Índice Temperatura Umidade (ITU)	22
2.2 Estresse por Calor e Parâmetros Fisiológicos	23
2.3.2 Triiodotironina (T3) e Tiroxina (T4).....	25
2.4 Consumo de Vacas em Ambiente Quente	26
3 HIPÓTESE E OBJETIVOS.....	36
4 MATERIAL E MÉTODOS	37
4.1 Local, Animais e Instalações	37
4.2 Dados ambientais.....	37
4.4 Manejo Nutricional e Período Experimental.....	41
4.5 Consumo de Matéria Seca e Amostragens de Alimentos	42
4.6 Avaliação dos parâmetros fisiológicos e hormonais.....	43
4.7 Avaliação dos parâmetros produtivos e composição do leite	43
4.8 Mensuração dos parâmetros da fermentação ruminal.....	44
4.9 Mensuração dos parâmetros bioquímicos	45
4.10 Avaliação da digestibilidade aparente total.....	45
5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	46
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
6.1 Consumo de Matéria Seca	48
6.2 Fermentação Ruminal	49
6.3 Parâmetros bioquímicos.....	50
6.4 Digestibilidade aparente	54
6.5 Produção e Composição de leite	55
7 CONCLUSÕES	62
REFERÊNCIAS	63

1. INTRODUÇÃO

No intuito de atender o mercado de consumidores cada vez mais exigentes, diversos produtos utilizados na alimentação animal vêm sofrendo algumas restrições visando à saúde humana, como a utilização de aditivos (monensina).

A União Europeia (UE) com Regulamentação (EC) Nº 1831/2003 proibiu o uso de ionóforos e aditivos promotores de crescimento nas dietas de animais de produção (EUROPA, 2003), assim, cresce a busca por aditivos alternativos com compostos naturais que atendem às exigências do mercado nacional e internacional, como por exemplo, os óleos funcionais ou essenciais, que são compostos químicos provenientes de extratos vegetais, os quais têm sido amplamente estudados.

O óleo funcional (Essential®, Oligo Basics) é um composto do óleo de casca de castanha de caju (ácido anacárdico, cardol e cardanol) e óleo de mamona (ácido ricinoléico). Estes compostos atuam, principalmente, na fermentação ruminal e balanço populacional das bactérias gran negativas e protozoários existentes no rúmen (CONEGLIAN, 2009). Em bovinos de corte não demonstrou diferenças entre o consumo de matéria seca (CMS, CONEGLIAN, 2009; JEDLICKA; PUREVJAV; CONOVER, 2009; VALERO et al., 2014), porém, outros estudos demonstraram aumento neste parâmetro (DEVANT et al., 2012; ZAWADZKI, 2013).

Ferreira de Jesus et al. (2016) estudaram vacas holandês lactantes suplementadas com a inclusão de aditivos (óleo funcional e monensina) e sem aditivos, e o resultados mostraram que o óleo funcional (Essential®, Oligo Basics) não influenciou o CMS e a digestibilidade aparente, porém, aumentou a produção de leite a produção e quantidade de proteína e lactose. A monensina ocasionou diferença na fermentação ruminal causando aumento de propionato no tratamento com monensina consecutivamente na relação acético: propiônico. Estas alterações sugerem que existe efeito do óleo funcional relacionados à produção e composição de leite, no entanto há um déficit de estudos em vacas lactantes.

A UE adotou uma “postura preventiva”, mesmo na ausência de dados científicos conclusivos, em relação à questão de que animais alimentados com ionóforos poderiam fazer mal a saúde humana (LOYOLA; PAILE, 2006). Alguns países como os Estados Unidos e o Brasil se basearam em evidências científicas para tomada de decisão. De acordo com Donoho (1984), a monensina deixa poucos resíduos no leite de vaca, aproximadamente 0,01ppm, permitindo assim, sua utilização em dietas de bovinos leiteiros.

Grande parte dos trabalhos encontrados aborda a ação destes extratos sobre o metabolismo dos ruminantes, principalmente, a atuação dos mesmos no ambiente ruminal a fim de melhorar a produção vacas leiteiras (BENCHAAAR et al., 2006b, 2008; FERREIRA DE JESUS et al., 2016). Estes compostos agem de maneira semelhante à dos ionóforos quanto aos produtos resultantes dos processos fermentativos e ao balanço populacional de bactérias e protozoários no ambiente ruminal (CONEGLIAN, 2009).

Além disso, outro fator que vem sendo alvo do público consumidor é o bem-estar dos animais, “estado de harmonia entre o animal e seu ambiente, caracterizado por condições físicas e fisiológicas ótimas e alta qualidade de vida do animal” (HURNIK, 1992). Em países como o Brasil que possui dois terços do seu território estão situados na faixa tropical do planeta, predominando as altas temperaturas do ar, em consequência da elevada radiação solar incidente, ocasiona um aumento na temperatura corpórea dos animais deixando – os estressados termicamente, principalmente em animais de alta produção. A monensina apresentou melhoras no consumo e no crescimento de bezerros em estresse térmico e alteração na fermentação ruminal (SALLES et al., 2008; SALLES; ZANETTI; SALLES, 2008) e em vacas lactantes estressadas alterou o CMS e não afetou a produção de leite (Baumgard et al., 2011). A utilização de aditivos como os óleos funcionais pode ser uma fonte alternativa para atender as exigências do mercado e talvez possa melhorar o desempenho de vacas em ambientes quentes. Entretanto, há um déficit de trabalhos com a utilização de monensina e óleo funcional em vacas lactantes sob estresse térmico.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Nos trópicos e subtropicais ocorre um típico problema, o estresse por calor, que ocasiona grandes perdas na produção de vacas leiteiras com reduções na produção e mudanças na composição do leite, redução na ingestão de alimentos e aumento na ingestão de água, resultando em perdas produtivas de aproximadamente 10% (HEAD, 1995)

De acordo com Azevedo et al. (2005) aproximadamente 64% do rebanho bovino mundial é criado em regiões tropicais, incluindo o Brasil, onde a temperatura média considerada é acima dos 20°C, e geralmente as horas mais quentes do dia, pode-se observar temperaturas acima dos 30°C em grande parte do ano, variando na faixa de 35°C a 38°C (TITTO et al., 1998).

2.1 Temperatura, Umidade e Índice Temperatura Umidade (ITU)

A zona de termoneutralidade (temperatura de conforto térmico) para vacas variam de acordo com seu estado fisiológico, gestante, lactante (terço inicial, médio ou final) ou seca e capacidade adaptativa (TITTO et al., 1998). De acordo com Huber (1990) a termoneutralidade para vacas da raça holandês lactantes pode variar de 4°C a 26°C. Nääs (1989) demonstra uma faixa de conforto entre 13°C a 18°C para a maioria dos ruminantes, no entanto, para vacas em lactação é de 4°C e 24°C, e considerando a umidade relativa do ar e radiação solar pode variar entre 7°C e 21°C.

Na avaliação de conforto térmico, deve se considerar a umidade relativa do ar (UR), pois a sensação térmica está diretamente relacionada com essa variável, já que a evaporação (uma forma de perda de calor corpóreo para o ambiente) diminui quando a UR é alta e ainda dependente da temperatura e velocidade do vento (PEREIRA, 2005).

Devido a essa relação foi criado o índice de temperatura umidade (ITU), que correlaciona a temperatura do ar e a umidade relativa do ar, apresentado pela primeira vez por Thom (1959), em humanos, e estendido para bovinos por Berry, Shanklin e Johnson (1964). Armstrong (1994) classificou o estresse térmico de acordo com a variação de ITU, quando ele está abaixo de 72 caracteriza um ambiente sem estresse por calor, (72 a 78) ameno ou brando, (79 a 88) moderado e (89 a 98) severo.

AZEVEDO et al. (2005) estimaram níveis críticos de estresse calórico igual ou superior a ITU de 80 no grupo genético $\frac{1}{2}$ Holandês x $\frac{1}{2}$ Zebu, 77 para $\frac{3}{4}$ Holandês x $\frac{1}{4}$ Zebu e 75 nos grupos $\frac{7}{8}$ Holandês x $\frac{1}{8}$ Zebu, baseado na temperatura retal (TR).

2.2 Estresse por Calor e Parâmetros Fisiológicos

Os bovinos possuem algumas características para adaptação ao calor, como a vasodilatação periférica, seguida pela sudorese. Se estes não forem o suficiente para adaptação é ativado um o terceiro mecanismo, o aumento da frequência respiratória (taquipnéia) e, conseqüentemente, neste processo também ocorre o aumento da frequência cardíaca (taquicardia, CUNNIGHAN, 1999)

A frequência respiratória (FR) tem alta correlação com a temperatura do ar durante as horas do dia, e esta é a primeira resposta ao estresse pelo calor possível de se ver e, devido a facilidade no monitoramento, é bastante utilizada como variável fisiológica para análise de ambientes para os bovinos (BROWN-BRANDL et al., 2005)

A perda de calor pelo aumento da FR é uma das mais eficientes, porém em períodos prolongados ocasionam conseqüências indesejáveis como redução da ingestão de matéria seca e ruminação, desvio de energia para outros processos metabólicos, podendo até ocasionar alcalose respiratória (VILELA, 2008). A alcalose respiratória é um processo onde ocorre o aumento do dióxido de carbono (CO_2) eliminado dos pulmões de forma mais rápida do que é produzido, assim, diminuindo sua concentração no sangue. O organismo para tentar manter a razão CO_2 /Bicarbonato (HCO_3) constante no sangue, aumentam a excreção de HCO_3 pelos rins. A diminuição de ambos torna o pH mais alcalino trazendo conseqüências para os processos metabólicos dos animais (DELA RICCI; ORSI; DOMINGUES, 2013).

A normalidade da FR em bovinos adultos varia entre 24 a 36 movimentos por minutos (mov/min), podendo apresentar valores mais amplos (FERREIRA et al., 2006). Hahn e Mader (1997) sugerem entre 18 a 60 mov/min para animais em condições de homeostase e acima de 120 mov/min para animais sob carga excessiva de calor.

Bovinos dependem da energia estocada por unidade de massa corporal para manter sua temperatura corporal, a qual pode aumentar através da termogênese ou diminuir pela termólise. (VILELA, 2008). Para avaliação da homeostase do animal a principal variável

fisiológica é a temperatura retal (TR). Este parâmetro é utilizado como índice de adaptação fisiológica do animal ao ambiente quente, onde seu incremento indica que os mecanismos de perda de calor estão sendo insuficientes para manter a homeotermia (FERREIRA et al., 2006). De acordo com MARTELLO et al. (2004) a TR média para bovinos é de $38,5 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ com idade acima de um ano sendo que esta temperatura acontece mediante o equilíbrio entre a produção de calor e sua liberação pelo organismo. Porém, alguns autores demonstram diferentes variações da TR entre $38,1$ a $39,1^{\circ}\text{C}$ (FERREIRA et al., 2006); 38 a $39,5^{\circ}\text{C}$ (DU PREEZ, 2000) ou $38,0^{\circ}\text{C}$ a $39,0^{\circ}\text{C}$ (PERISSINOTTO, 2007).

Outro fator de grande importância nas trocas de calor é a temperatura do pelame. Quando a temperatura do pelame for maior que a temperatura ambiente, o organismo cede calor as moléculas do ar. Esta troca de calor é chamada de convecção, ou seja, quanto menor a temperatura do pelame maior será a intensidade das trocas térmicas, consequentemente melhor o conforto dos animais (BACCARI JUNIOR, 2001, ARCARO JÚNIOR et al., 2005)

Na literatura são apresentadas diversas metodologias da temperatura do pelame de bovinos, com termômetro infravermelho, os quais mensuram regiões como dorso em áreas de pelame negro (CONCEIÇÃO, 2008; MATARAZZO, 2004; SILVA MARTELLO et al., 2004) ou região dorsal em pelame negro e branco (AMARAL, 2008) ou cabeça, dorso e glândula mamária (ARCARO JÚNIOR et al., 2005). Pinheiro et al. (2005) mensuraram a temperatura da cabeça, dorso, canela e úbere e sugerem uma média ponderada, desses quatro pontos de coleta no corpo do bovino, atribuindo pesos de 10, 70, 12 e 8%, respectivamente.

2.3 Balanço Hormonal de Vacas sob Estresse por calor

Além das alterações fisiológicas, as altas temperaturas promovem efeitos sobre a tireoide e glândulas adrenais, as quais desempenham importantes funções no mecanismo de adaptação ao estresse (URIBE-VELASQUEZ et al., 1998)

2.3.1 Cortisol

O cortisol que é liberado em situações de estresse e atua como modulador de diversos sistemas de acordo com as respostas ambientais. Ele estimula a liberação de aminoácidos, glicose e gordura através da degradação de tecido muscular, hepático e adiposo,

consecutivamente, para liberar energia afim, de usa-la para dissipar o calor excessivo (CAMPOS et al., 2008; SAPOLSKY; ROMERO; MUNCK, 2000).

A síntese do cortisol ocorre no córtex adrenal, através da liberação de CRH (hormônio liberador de corticotrofinas) no hipotálamo ocasionado por alterações do ambiente, tanto como manejo e/ou temperatura, consecutivamente a liberação de ACTH (hormônio liberador de adrenocorticotrófico) na hipófise e de glicocorticoides pelo córtex da adrenal. Esse sistema é controlado por retroalimentação negativa, ou seja, a concentração de cortisol sanguíneo inibe a secreção do CRH e ACTH (BOND et al., 2012; DUKES, 2006). O eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal regula diversos processos, como reprodução, sistema imune e equilíbrio energético (FERREIRA et al., 2009).

Em situações de estresse a curto prazo, os glicocorticoides podem melhorar o desempenho pela mobilização de energia e podem adaptar o organismo em desafios de estresse. Porém, sob estresse crônico grave pode diminuir o desempenho pela imunossupressão e atrofia tecidual (exemplo glândula mamária) consecutivamente diminuindo a produtividade (GAUGHAN et al., 2009).

Vacas estressadas pelo calor (agudo) tem níveis de concentrações de cortisol plasmáticos maiores e quando crônico este nível diminui (ARANTES et al., 2013). Animais em condições de termoneutralidade em torno de 3,5 ng/mL, enquanto animais estressados termicamente apresentam valores maiores no intervalo entre 4,5 a 15,6 ng/mL podendo chegar a valores entre 21,5 a 43 ng/mL (DU PREEZ, 2000). O cortisol também apresenta influencia em dias mais curtos, podendo se elevar, apesar de bovinos de leite não serem raças estacionais (CHAIYABUTR; CHANPONGSANG; SUADSONG, 2008; ZAHNER et al., 2004).

2.3.2 Triiodotironina (T3) e Tiroxina (T4)

Durante o estresse térmico também ocorre a diminuição da atividade do eixo HHT (hipotálamo-hipófise-tireoide), ocasionando a diminuição das concentrações dos hormônios tireoidianos. Os hormônios da tireoide estão associados com aumento e diminuição das taxas metabólicas e potencialização das catecolaminas, assim a glândula tireoide demonstra-se sensível a este tipo de estresse reduzindo o calor metabólico (COSTA, 2014; JOHNSON et al., 1988; MORAIS et al., 2008).

As concentrações normais de T_3 variam de 41 a 73 $\mu\text{g/dL}$ e T_4 de 3,6 a 8,9 $\mu\text{g/mL}$. Estes hormônios podem ser detectáveis na circulação periférica e o controle da sua produção e liberação ocorre através da ação do hormônio tireotrófico (TSH) produzido na hipófise (LUNARDELLI et al., 2007; STARLING et al., 2005).

A redução dos hormônios T_3 e T_4 durante o estresse crônico por calor ocasiona diminuição da taxa metabólica, podendo ocasionar mudanças nas funções corporais, como consumo de matéria seca, peso corporal e produção de leite (LUNARDELLI et al., 2007; MORAIS et al., 2008; NASCIMENTO et al., 2013).

Os hormônios tireoidianos são afetados por fatores internos e externos que aumentam ou diminuem a taxa de produção de TSH, como balanço energético, variação circadiana, temperatura ambiental e doenças que regulam através do processo de retroalimentação negativa (FAÇANHA et al., 2013; LECHAN; FEKETE, 2006)

2.4 Consumo de Vacas em Ambiente Quente

Algumas estratégias são adotadas pelos bovinos afim de manter a temperatura corpórea, como a redução da ingestão de alimentos de até 30%, consecutivamente diminuição do tempo gasto ruminando, pois, esta atividade pode gerar muito calor (SIMÕES, 2014). Outro fator é que ocorre uma alteração no comportamento alimentar onde os animais procuram mais alimentos concentrados do que forragem, aumento no consumo de água, quando em pastejo procuram pastejar à noite, quando alojados em *freestall* permanecem maior tempo deitados no corredor (GAUGHAN et al., 2010; LAGANÁ et al., 2005; MALAFAIA et al., 2011).

Passini et al. (2009) observaram redução de 22% no consumo de matéria seca (CMS) em animais estressados termicamente por calor, consecutivamente, uma redução dos nutrientes digestíveis totais (NDT) e fibras em detergente neutro (FDN) e uma redução da digestibilidade da proteína bruta, amido e energia bruta. De acordo com Silva et al. (2012) a intensidade do estresse térmico influencia na redução do consumo de alimentos, ou seja, quanto maior o estresse maior a redução do CMS, o qual se deve à inibição do centro do apetite localizado no hipotálamo. Esta redução no consumo pode influenciar diretamente na produção de leite, devido a hipofunção da tireoide e pela energia despendida para eliminar o calor (BACCARI JUNIOR, 2001).

2.5 Parâmetros produtivos de animais sob Estresse por calor

A homeotermia aparece como prioridade no metabolismo do animal frente a outras funções produtivas, como, por exemplo, a lactação (BACCARI JUNIOR, 2001). Segundo Pinarelli (2003) vacas com produção diária de 40 kg de leite pode diminuir sua produção em até 22% e de produção diária de 15 kg/leite em até 17% quando estressadas por calor.

O índice temperatura umidade acima de 75 para animais da raça holandês causa um decréscimo na produção de leite e ingestão de alimentos, e ITU 70 e menor não causam efeito de desconforto térmico (CAMPOS et al., 2002). Alguns autores sugerem que a diminuição da produção de leite é devido a redução do consumo de alimentos, principalmente (BACCARI JUNIOR, 2001; PINARELLI, 2003). Johnson et al. (1963) estimaram que para o aumento de 0,55°C da temperatura retal diminui a produção de leite em 1,8 kg de leite e o consumo em 1,4 kg de matéria seca.

O fator da ingestão do alimento relacionado ao estresse por calor além da alteração da produção de leite, isto também promovem alterações sobre o metabolismo da glândula mamária e da composição do leite (ARCARO JR et al., 2003), podendo alterar os teores de gordura, proteína e cálcio (TITTO et al., 1998), lactose, ácido cítrico e potássio (HEAD, 1989). Já considerando a existência da variação sazonal anual de sólidos totais e extrato seco desengordurado onde no período frio é maior que no período chuvoso e quente (COOLIER, 1985; PONSANO et al., 1999).

O aumento do consumo de água, mudança comportamental (mais tempo em ócio afim de eliminar o calor excedente), redução do consumo, aumento do fluxo periférico sanguíneo (diminuição da absorção de nutrientes e sua disponibilidade para a glândula mamaria) ocasionam a queda na produção e alteração na composição (MCGUIRE et al., 1989; PERISSINOTTO et al., 2005).

Outro parâmetro que pode ser afetado pelo estresse térmico é a contagem de célula somáticas (CCS), porém, este mesmo está sujeito a diversos fatores como a variação do estágio de lactação, nível da produção de leite, idade da vaca, a estação do ano, o tamanho do rebanho e a presença de outras doenças (PORCIONATO et al., 2009).

O estresse térmico prolongado está correlacionado com a ocorrência de mastite, aumento da CCS no leite e o escore do Califórnia Mastite Teste (WEGNER et al., 1976). Em Igono et al. (1987) comentaram que a alteração da CCS pode estar correlacionada com a

temperatura retal, quando as vacas estão submetidas ao estresse calórico, mas não influencia a CCS de um úbere não infectado.

Porém, este fator é contraditório, de acordo com Porcionato et al. (2009) não há evidências de que o estresse térmico aumente diretamente a CCS, o que ocorre é que nos períodos mais quentes e úmidos (verão) as vacas estão mais expostas aos patógenos. As altas temperaturas e umidade pode aumentar o número de patógenos no ambiente ao quais os animais estão expostos e sua suscetibilidade a infecções (SMITH; TODHUNTER; SCHOENBERGER, 1985). O estresse térmico crônico aumenta os níveis de cortisol o qual inibe o sistema imunológico, deixando as vacas susceptíveis às doenças e infecções (RUSSI et al., 2011).

2.6 Aditivos Alimentares para Amenizar o Estresse Calórico

Diversas estratégias podem ser adotadas para amenizar o estresse térmico como climatização das instalações (*free-stall*, sala de espera, etc.) com nebulizadores, ventiladores, sombras artificiais ou naturais para vacas em pastejo, fornecimento de água *ad libitum*, e uma estratégia nutricional. Neste caso será abordado apenas uma que é a inclusão de aditivos (monensina e óleo funcional), os quais são moduladores de fermentação ruminal e podem auxiliar na melhora da digestibilidade, consumo e fermentação ruminal de animais em estresse térmico diminuindo a produção de calor proveniente da digestão dos alimentos.

2.5 Aditivos

2.5.1 Monensina

Na produção animal, o custo com a alimentação representa aproximadamente 60 a 70% do custo total, assim, é necessário fornecer níveis adequados para garantir melhores índices de produção e lucratividade. Para garantir que os nutrientes ingeridos e digeridos pelos ruminantes serão absorvidos e aproveitados para uma melhor produção, os aditivos são incluídos na dieta, a fim de melhorar o balanceamento da dieta (CONEGLIAN, 2009).

Para maximizar o consumo de energia de vacas em fase inicial da lactação é importante minimizar a mobilização de gordura corpórea do animal e alcançar o pico de

lactação, sem causar prejuízos à saúde e na persistência da lactação (KNOWLTON; ALLEN; ERICKSON, 1996). Uma das formas para garantir isso é elevar o teor de concentrado na dieta. Entretanto, esta prática, proporciona altas quantidades de carboidratos não estruturais que podem acarretar desordens metabólicas e ruminais, influenciando negativamente o consumo e a produção leiteira (NRC, 2001). Como alternativa, pode-se aumentar a concentração energética das dietas utilizando fontes de gordura (DRACKLEY, 1999) e/ou melhorar a absorção e digestão com a adição de ionóforos (MCGUFFEY; RICHARDSON; WILKINSON, 2001).

Os ionóforos podem atuar no metabolismo dos ruminantes, onde é absorvido pelo trato gastrointestinal e/ou atuam sobre a membrana celular da população microbiana do rúmen. Devido à solubilidade em membranas, após a combinação com íons, os ionóforos passam a fazer parte destas e a desempenhar as funções de transporte de íons de um lado para outro da membrana (MACHADO; MADEIRA, 1990), assim, elevam a participação de bactérias Gram-negativas no rúmen, alterando os produtos finais da fermentação, pelo aumento da proporção de propionato e pela redução das proporções de acetato, de butirato e da produção de metano em até 30% (EIFERT et al., 2005). Consequentemente ocorre aumento da energia líquida das dietas (MCGUFFEY; RICHARDSON; WILKINSON, 2001). Ipharraguerre e Clark (2003) indicaram que a monensina aumenta as concentrações plasmáticas de glicose e reduz a quantidade, no plasma, de ácidos graxos não esterificados e de corpos cetônicos, que estão associados à redução no consumo no início da lactação (DRACKLEY, 1999).

Trabalhos com ionóforos demonstram resultados diversos segundo a revisão de Ipharraguerre e Clark (2003), indicando uma relação da monensina com fatores dietéticos e fisiológicos. Phipps et al. (2000) demonstraram que a utilização de monensina reduziu o consumo em 2% e aumentou a produção de leite, no início da lactação e Duffield et al. (1999) verificaram que a resposta à monensina foi dependente do escore corporal. Contudo, a redução no consumo, em bovinos de corte, parece ser mais frequente quando as vacas estão entre o terço médio e o final da lactação (IPHARRAGUERRE; CLARK, 2003; MCGUFFEY; RICHARDSON; WILKINSON, 2001).

Alguns autores como Broderick (2004) e Ramanzin et al. (1997) não observaram resultados na produção de leite. Entretanto, Ruiz et al. (2001) observaram aumento na produção de leite com adição de monensina na dieta.

Segundo Benchaar, Duynisveld e Charmley (2006), as razões para a discrepância entre os estudos são difíceis de explicar, por estarem relacionados com diferenças nos níveis

dietéticos da inclusão da monensina, estágio de lactação, consumo de alimento, composição da dieta e duração do ensaio.

Salles et al. (2008) avaliaram a performance de bezerros com inclusão de monensina (0 ou 85 mg/animal diária) em duas temperaturas (24,3 ou 33,2 °C) onde a inclusão deste aditivo melhorou o ganho de peso a eficiência alimentar, também aumentou a concentração de AGCC e diminuiu a proporção de propionato e butirato independente da temperatura, porém, os animais com a inclusão de monensina reteram e absorveram mais nitrogênio quando submetidos a alta temperatura e estes tratamento também aumentou a digestibilidade da proteína em ambas temperaturas. Já Salles, Zanetti e Salles (2008) utilizando o mesmo modelo animal e tratamento apresentaram que a inclusão da monensina em altas temperaturas aumenta a retenção de sódio (Na), potássio (K) e fosforo (P) em altas temperaturas e diminui em temperaturas não estressantes.

Baumgard et al. (2011) avaliando vacas multíparas com inclusão ou não de monensina (450 mg/vaca/dia) em diferentes condições ambientais termo neutra (20°C) e estressante cíclico variando de 29,4 para 38,9°C, onde o efeito ambiental aumentou a temperatura retal e taxa de evaporação e diminuiu o CMS, as vacas alimentadas com monensina consumiram menor teor de matéria seca independente da temperatura ambiental e não afetou a produção de leite e melhorou a eficiência alimentar.

2.5.2 Óleos Funcionais

Os óleos funcionais vêm sendo estudados nos últimos anos com grande ênfase na alimentação de ruminantes, pois possuem compostos como terpenóides aromáticos, líquidos lipofílicos, fenólicos (KOHLERT et al., 2000), obtidos através de diferentes partes da planta, tais como, folhas, raízes, caule ou de mais de uma parte, por destilação ou destilação a vapor.

Os óleos essenciais têm atividades antimicrobianas contra as bactérias gram-negativas e gram-positivas (CONNER, 1993). Há estudos sobre os efeitos do óxido de etileno sobre microrganismos ruminais e metabolismo ruminal, onde a maioria destes são de curto prazo em incubações de culturas *in vitro* (BUSQUET et al., 2005; CARDOZO et al., 2004; CASTILLEJOS et al., 2005; MCINTOSH et al., 2003) ou em incubações *in situ* (BENCHAAR et al., 2003a; MOLERO et al., 2004; NEWBOLD et al., 2004), e poucos foram realizados *in vivo* para avaliar a influência no metabolismo de ruminantes e desempenho

com óleos essenciais (BENCHAAR et al., 2003b, NEWBOLD et al., 2004, BENCHAAR et al., 2006b).

Dorman e Deans (2000) sugeriram que a atividade microbiana se deve ao rompimento das paredes celulares devido ao caráter lipofílico dos óleos essenciais que se acumulam nas membranas. As bactérias gram-negativas possuem uma membrana externa que contém lipossacarídeos, formando uma superfície hidrofílica. Este caráter hidrofílico cria uma barreira à permeabilidade das substâncias hidrofóbicas como os óleos essenciais. Isso pode explicar a frequente resistência das bactérias gram-negativas ao efeito antimicrobiano de alguns óleos essenciais (CHAO et al., 2000).

Newbold et al. (2004) desenvolveram trabalhos com ovinos fistulados, nos quais ocorreu ação antimicrobiana seletiva dos óleos essenciais sobre a flora ruminal, observando alterações na degradação da proteína e no processo de deaminação no rúmen.

Dentre a variedade de óleos funcionais, o óleo da mamona e da casca da castanha de caju tem sido utilizado de forma combinada (Essencial® – Oligo Basics) na dieta de ruminantes.

A mamona (*Ricinus communis* L.) é uma oleaginosa pertencente à família *Euforbiaceae*, sua origem é africana e trazida pelos colonizadores portugueses. A mamona pode apresentar cerca de 39,6 a 59,5% de óleo na semente (MACHADO GER; LOPES; OLIVEIRA SILVA, 2006), sendo ela, uma árvore de regiões tropicais com habito arbustivo de diversas colorações de caule, folhas e racemos (cachos) possuindo ou não cera no caule e pecíolo. A extração deste óleo é realizada por prensagem hidráulica (pressão descontínua) por meio de solventes orgânicos, com altas temperaturas e pressão e extração por prensa contínua do tipo “*expeller*” das sementes e confere a este óleo uma ampla utilização industrial (MARSIGLIO, 2012).

O Nordeste brasileiro é responsável por cerca de 90% da produção nacional (SEVERINO; MILANI; BELTRÃO, 2006) onde é capaz de produzir em condições de baixa precipitação pluviométrica e com um bom mercado consumidor (BELTRÃO et al., 2003).

O óleo de mamona também conhecido como óleo de rícino e diferencia-se dos demais vegetais por conter maior quantidade de hidróxidos. Esse triglicerídeo possui aproximadamente 90% de suas cadeias de ácidos graxos composta por ácido ricinoléico, que contém um grupo carboxila no carbono 1, uma dupla ligação no carbono 9 e outra hidroxila no carbono 12 que conferem a esse composto alta estabilidade e alta viscosidade; além de solidificarem em baixas temperaturas (SAVY FILHO; BANZATTO; BARBOZA, 1999).

Gandra et al. (2012) observaram efeito quadrático no ganho diário e final de peso em novilhos nelore e também em leucócitos, linfócitos e ureia e nitrogênio ureico no sangue, além de efeito linear para albumina, AST e GGT, com diferentes níveis (0, 1, 2 e 4 g/animal dia) de ácido ricinóleico proveniente de óleo de mamona. Em experimentação com vacas lactantes, no terço médio de lactação, da raça Simental utilização de ácido ricinóleico nos níveis de 0 e 2 g/animal/dia, em *tie-stall* climatizados, a inclusão do mesmo aumentou a produção a produção e o teor de gordura do leite e o mesmo reduziu o consumo e não apresentou diferença nos metabolitos sanguíneos, AST, GGT, ALP ureia, albumina e proteína total (GANDRA et al., 2014).

Queiroga et al. (2010) avaliaram a inclusão de óleo de mamona na proporção de 3 e 5% com base na matéria seca em cabras mestiças e não encontraram diferença no CMS proteína produção de leite e produção de leite corrigida para 4% de gordura, na proporção de 3% comparado ao sem inclusão de óleo, entretanto, a porcentagem de sólidos totais e gordura no leite foram menores e a porcentagem de lactose maior e com inclusão de 5% diminuiu o CMS, mas não alterou a composição do leite em porcentagem. Maia et al. (2010), utilizando os mesmos tratamentos e modelos animais não observaram diferença no consumo de animais alimentados com a inclusão de 3% apenas, e também não encontraram diferença nos parâmetros bioquímicos (glicose, ureia e ácidos graxos não esterificados). No que se refere a digestibilidade ocorreu aumento da digestibilidade aparente da proteína bruta e extrato etéreo da dieta e a digestibilidade do FDN.

Considerando o óleo de caju, seus princípios ativos são o ácido anacárdio (2 - 3%), cardol (15 a 18%) e cardanol (75 a 80%). Todos os componentes são caracterizados pela presença de cadeia linear de 15 carbonos com variações quanto ao grau de insaturação (SHOBHA et al., 1994). Himejima e Kubo (1991) isolaram 16 compostos fenólicos a partir do óleo de caju, observando extensa atividade antimicrobiana contra 12 microrganismos. Entre esses compostos fenólicos o ácido anacárdio apresentou a atividade mais inibitória contra as bactérias gram-negativas testadas. Por outro lado, o cardanol possui atividade tanto anti-inflamatória como antioxidante.

O cajueiro (*Anacardium occidentale L.*), é a árvore de onde se retira a castanha de caju para extração do óleo, é nativa do Brasil e pode ser encontrada em quase todo território nacional sendo sua maior concentração e produção no Nordeste, podendo ser encontrada também no Leste da África e Índia. A Índia possui a maior produção mundial e é responsável por 50% das exportações mundiais deste produto (PUREVJAV, 2011).

A extração do óleo da casca de castanha de caju pode ser realizada a frio através dos métodos de prensagem com uso de solventes e extração super crítica com CO₂ porém garante 100% de rendimento, outra forma de extração é com processo térmico-mecânico onde é aquecido ($\pm 190^{\circ}\text{C}$) liberando alquilfenóis presente no metacarpo da semente, e após ocorre a remoção da casca interna e recuperação das amêndoas, este método é o mais utilizado no Brasil pois assim ocorre a extração das castanhas que são direcionadas ao consumo humano, considerando o óleo da casca de castanha de caju como um sub produto e com baixo valor agregado (PUREVJAV, 2011).

Estudos *in vitro* demonstraram que a adição de óleo de cascas de castanha de caju reduziu a concentração ácido acético e na produção de metano e um aumento na concentração de propionato (VAN NEVEL; DEMEYER; HENDERICKX, 1971; WATANABE et al., 2010). Shinkai et al. (2012) utilizaram vacas canuladas e não observaram influência no pH ruminal e concentrações de lactato e de nitrogênio amoniacal. Entretanto, ocorreu um aumento das bactérias produtoras de lactato. Estes mesmo autores não encontraram diferença na digestibilidade e consumo de nutrientes. Coutinho et al. (2014) avaliaram diferentes doses de óleo de castanha de caju (120; 240 e 360 mg/kg da MS) também não encontraram efeito sobre o consumo e digestibilidade dos nutrientes, consumo e produção de leite e produção de leite corrigida para gordura.

A atividade antimicrobiana comprovada dos óleos funcionais tem direcionado alguns trabalhos para investigar o potencial desses na manipulação da fermentação ruminal, visando melhora na eficiência alimentar e utilização de nutrientes pelos ruminantes.

Benchaar et al. (2006) avaliaram vacas em lactação suplementadas com um composto de óleos essenciais (Crina Ruminants®), 0 e 2 g/dia e monensina 0 e 350 mg/d e não observaram diferenças significativas no consumo de matéria seca e digestibilidade aparente dos componentes, com exceção para fibra em detergente ácido (FDA) no tratamento com óleo essencial e na proteína bruta para a inclusão de monensina, também observaram aumento do pH com a inclusão de óleo essencial, e a monensina afetou negativamente a produção de leite corrigida, pois apresentou menor proporção de gordura no leite. Da mesma forma, Benchaar et al. (2007) não observaram mudanças na ingestão de matéria seca, produção de leite e a concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen e demonstraram tendência do aumento de pH para vacas lactantes alimentadas com uma mistura de óleos essenciais (750 mg/dia; Crina Ruminants®) e silagem de milho e alfafa, e alteração da fermentação ruminal (acetato e propionato) e diminuição dos AGCC na silagem de alfafa. No entanto, quando bovinos de corte alimentados com dieta à base de silagem de

milho foram suplementadas com um composto de diferentes óleos essenciais (2 e 4 g/dia; Vertan®) houve aumento na ingestão de matéria seca quando comparados a animais não suplementados (BENCHAAAR et al., 2006b).

Em experimento com vacas lactantes, terço médio da lactação, suplementadas com óleo essencial Crina® Ruminants (1,2 g/animal/dia), quitosana (150 mg/kg do peso vivo), monensina (24 mg/kg de MS) e dieta controle (sem aditivos) não encontram efeito dos tratamentos sobre o CMS e a produção e composição do leite. Entretanto, o óleo essencial diminuiu a excreção de nitrogênio e a monensina e a quitosana reduziram a concentração de ácido acético no rúmen comparando com a dieta controle (VENDRAMINI et al., 2016).

Coneglian (2009) testou o uso de óleos funcionais (Essential®, Oligo Basics Agroindustrial Ltda.) de mamona e caju ou monensina para animais mantidos em dietas de alto grão. A monensina foi fornecida na dosagem de 0,2 g/dia e os óleos essenciais adicionados nos níveis de 1, 2, 4 e 8 g/dia. Os tratamentos não alteraram o consumo de matéria seca, produção de amônia ruminal, concentração de propionato, butirato e AGCC totais. O nível de 4 g/dia de óleos essenciais foi recomendado para animais em crescimento mantidos no sistema confinado. Já Jedlicka, Purevjav e Conover (2009) avaliaram novilhos suplementados com este mesmo aditivo em doses de 250 e 500 mg/dia, monensina 223mg/dia e dieta controle não observou efeito dos aditivos para o CMS. Valero et al. (2014) também não encontrou diferença no CMS em novilhos mestiços comparando com o efeito da adição de própolis e o óleo funcional Essential®.

Resultados esses que diferem de Silva (2014) onde novilhos castrados, em confinamento, obtiveram maior CMS consumindo o óleo funcional Essential® ao comparar a inclusão de diferentes doses de monensina (30 e 40 mg/kg da MS) e monensina e virginiamicina (30 mg/kg da MS 25 mg/kg da MS, respectivamente). Devant et al (2012) utilizando uma mistura líquida da casca da castanha de caju e de mamona (Essential®) também encontraram um melhor consumo em bovinos de corte com dietas de alto grãos, o ganho de peso e apresentou tendência em melhorar a integridade da parede do rúmen e diminuir abscessos no fígado.

Zawadzki (2013) relatou maior consumo de matéria seca de bovinos confiando em dietas com inclusão do óleo funcional Essential® quando comparados a dieta controle (sem inclusão de aditivos). Porém, quando parte do milho foi substituído por glicerina ou associado nas dietas a inclusão de óleo funcional não difere no consumo de matéria seca.

Ferreira de Jesus et al. (2016) utilizaram vacas da raça holandês no terço médio de lactação submetidas a inclusão de óleo funcional Essential® (500 mg/ kg de MS), monensina

(22 mg/ kg de MS) e dieta controle (sem aditivos), não encontraram efeito para consumo e digestibilidade dos nutrientes, porém, os óleos funcionais aumentaram a concentração de propionato e diminuiu a concentração de ureia no sangue em relação aos parâmetros produtivos a produção de leite, a quantidade de proteína e lactose do leite foram maior quando incluído os aditivos.

Pimentel et al. (2007) utilizaram casca de castanha de caju na proporção de 0, 8, 16 e 24% no teor de MS do concentrado e como volumoso a cana de açúcar, com média de ITU foi de 82,5, onde esses autores relatam que o maior CMS foi dos animais que não foi adicionado a castanha de caju comparados ao 16 e 24% não sendo diferente do 8% de inclusão. Referente aos parâmetros produtivos e de estresse térmico (temperatura do leite e retal, FR e frequência cardíaca) não apresentou influência dos tratamentos.

Brasil (2003) avaliou o efeito do farelo da castanha de caju na inclusão de 0 e 20% do concentrado no semiárido brasileiro com média de temperatura de 27,3°C e 74% de umidade relativa do ar onde não encontrou diferença no CMS e produção de leite e influenciando na atividade ovariana e no diâmetro dos folículos, assim reduzindo o intervalo parto concepção.

A utilização de aditivos em animais estressados termicamente pouco tem sido elucidada, principalmente quando se refere ao uso de óleos funcionais.

3 HIPÓTESE E OBJETIVOS

A hipótese testada foi que os aditivos, óleos funcionais e monensina, são capazes de alterar a produção de vacas em lactação no período de verão.

Assim, o presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito da inclusão dos óleos funcionais e monensina na dieta sobre parâmetros produtivos, fisiológicos e digestibilidade de vacas lactantes primíparas no período do verão sem climatização.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local, Animais e Instalações

O projeto foi desenvolvido no Centro de Análise e Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Bovinos de Leite, Instituto de Zootecnia, APTA-IZ, Nova Odessa, SP, no período de verão e início de outono (02 de janeiro a 23 de abril de 2014). A região de Nova Odessa situa-se na latitude 22° 33' 02" S e longitude 47° 38' 05" W, com altitude de 550 m. Foram utilizadas oito vacas da raça Holandesa primíparas, lactantes, com $68 \pm 3,46$ dias de lactação e peso médio de 512 ± 66 kg. Os animais foram mantidos em instalação coberta (*free-stall*) divididas por fio de choque gerando baias individuais guarneçadas com camas de areia lavada, cochos individuais de alimentação e bebedouros. No período experimental não foi utilizado nenhum equipamento para refrigerar o ambiente do *free-stall* e nem na ordenha, ou seja, os animais estavam sujeitos a temperatura e umidade do ar relativa do ambiente. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do mesmo centro com o número de protocolo 189 na reunião realizada no dia 18 de novembro de 2013 do APTA – IZ.

4.2 Dados ambientais

Para a captação dos dados de temperatura do ar (T°C) e umidade relativa (UR) foram utilizados dois *data logger* (Lufft® Opus 10) alocados nos dois terços do *free-stall* e, aproximadamente, a um metro acima da cabeça das vacas, afim de evitar que os animais mexessem nos sensores podendo alterar sua mensuração. Foi realizado o download dos dados toda semana afim de se evitar perda dos mesmos.

As médias de temperatura, umidade e índice temperatura e umidade (ITU) do período experimental estão descritas na tabela 1 e nos gráficos 1, 2 e 3. Os dados ambientais de 01 a 08 de janeiro foram captados da Central Meteorológica do IZ, pois os sensores não captaram nestas datas. A formula utilizada para o cálculo do ITU está descrita abaixo de segundo Thom (1959) e estendido para bovinos por Berry; Shanklin; Johnson (1964) e descrita abaixo. De acordo com Armstrong (1994), os níveis de 72 a 78 os animais estão sob estresse calórico ameno ou brando e níveis de ITU de 79 a 88 moderado, ou seja, os

animais nos períodos experimentais passaram por estresse de ameno a moderado como pode ser observado na Tabela 1.

$$ITU = T^{\circ}\text{F} \times \left(0,55 - \left(0,55 \times \left(\frac{UR}{100} \right) \right) \right) \times (T^{\circ}\text{F} - 58)$$

Tabela 1 – Descrição dos dados ambientais no período experimental

Variáveis	Média	Mínimo	Máximo	EPM*
Temperatura (°C)	25,31	20,65	31,50	0,26
Umidade Relativa (%)	71,24	46,32	90,30	1.03
Índice Temperatura Umidade	73,85	68,32	79,83	0,14

*EPM = erro padrão da média.

Figura 1 – Valores médios, mínimos e máximos das temperaturas (°C) diárias durante o período experimental.

Figura 2 – Valores médios, mínimos e máximos da umidade relativa do ar (%) diárias durante o período experimental.

Figura 3 – Valores médios, mínimos e máximos do Índice de temperatura e úmida (ITU) diárias durante o período experimental.

4.3 Tratamentos e Delineamento Experimental

As vacas foram alimentadas com uma dieta de 54% de volumoso (silagem de milho) e 46% de concentrado em base da matéria seca (MS), diferindo quanto à fonte de aditivo, em um esquema fatorial 2x2, sendo Óleo Funcional (-OF= sem inclusão de Óleo Funcional, +OF= com inclusão de Óleo Funcional) e Monensina (-MO= sem inclusão de Monensina, +MO= com inclusão de Monensina). A dieta experimental foi formulada com base no NRC (2001), seguindo as recomendações do mesmo (20 kg de leite/dia), como apresentada na tabela 3, sendo a diferença entre elas apenas a inclusão dos aditivos onde nas dietas contendo Óleo Funcional foi adicionado o produto Essential® a 0,5 g/kg MS (OF, Oligo Basics Agroindustrial Ltda., composto de óleo de mamona e óleo de casca de castanha de caju) e na dieta Monensina o produto comercial Rumensin® a 30 mg/kg MS (MO, Elanco Saúde Animal, São Paulo – SP).

As oito vacas foram distribuídas aleatoriamente em dois quadrados latinos 4x4 sendo que cada período experimental foi composto de 28 dias, com 21 dias de adaptação e sete dias de coleta. A unidade experimental foi o animal dentro de cada período experimental (Tabela 2).

Tabela 2 – Esquema do delineamento em quadrado latino 4x4 replicado com arranjo fatorial 2x2, sendo: -OF= sem inclusão de Óleo Funcional, +OF= com inclusão de Óleo Funcional, -MO= sem inclusão de Monensina, +MO= com inclusão de Monensina, com cada período composto por 21 dias de adaptação e 7 de colheita de dados.

Animal	Quadrado 1				Quadrado 2			
	1	2	3	4	5	6	7	8
Período I	-OF-MO	+OF-MO	-OF+MO	+OF+MO	-OF-MO	+OF-MO	-OF+MO	+OF+MO
Período II	+OF-MO	-OF+MO	+OF+MO	-OF-MO	+OF-MO	-OF+MO	+OF+MO	-OF-MO
Período III	+OF+MO	-OF-MO	+OF-MO	-OF+MO	+OF+MO	-OF-MO	+OF-MO	-OF+MO
Período IV	-OF+MO	+OF+MO	-OF-MO	+OF-MO	-OF+MO	+OF+MO	-OF-MO	+OF-MO

Tabela 3 – Proporções de ingredientes e composição química da silagem, concentrado e da dieta experimental, expressas em porcentagem da matéria seca (% MS)

Ingredientes (% MS)			
Silagem de milho		58,00	
Milho moído		11,21	
Farelo de soja 45%		12,67	
Casca de soja		16,03	
Calcário calcítico		0,30	
Premiphos Leite Vitamínico ¹		1,79	
Composição química (%MS)			
	Silagem	Concentrado	Dieta
Matéria Seca (%) ²	17,05	36,90	53,95
Matéria Orgânica (%) ²	14,28	32,13	46,41
Proteína Bruta (%) ²	4,04	10,40	14,43
Matéria Mineral (%) ²	2,77	4,77	7,54
Extrato Etéreo (%) ²	1,37	0,51	1,88
Carboidratos Totais (%) ³	49,82	26,33	76,15
Celulose (%) ²	16,25	6,97	23,22
Hemicelulose (%) ²	17,04	6,64	23,67
Fibra Detergente Neutro (%) ²	36,34	13,97	50,32
Fibra Detergente Acido (%) ²	19,02	7,34	26,36
Lignina (%) ²	2,21	0,27	2,47
Carboidrato não fibroso (%) ⁴	13,48	12,35	25,83
Nutrientes Digestíveis Totais (%) ⁵	68,08	80,92	73,47
Energia Bruta (cal/g de MS) ²	2579,84	1730,18	4310,02
Energia líquida da lactação	1,28	0,90	1,12
Ca (g/kg) ²	1,97	14,34	16,32
P (g/kg) ²	0,91	3,06	3,97

¹Níveis de garantia do fabricante: Cálcio (mín/máx) 280/300 g; Cobalto (mínimo) 100 mg; Cobre (mínimo) 700 mg; Enxofre (mínimo) 24,5 g; Flúor (máximo) 778 mg; Fósforo (mínimo) 77,8 g; Iodo (mínimo) 70 mg; Manganês (mínimo) 1.390 mg; Potássio (mínimo) 24 g; Selênio (mínimo) 20 mg; Vitamina A (mínimo) 220.000 UI; Vitamina D (mínimo) 55.000 UI; Vitamina E (mínimo) 795 UI; Zinco (mínimo) 2.490 mg. ²Análises realizadas no laboratório de bromatologia do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa de acordo com a AOAC (1985). ³Calculados de acordo com Sniffen et al. (1992). ⁴Calculados de acordo com Hall (1998). ⁵Estimado pelo NRC (2001).

4.4 Manejo Nutricional e Período Experimental

As dietas foram oferecidas *ad libitum*, na forma de ração completa, duas vezes ao dia, metade após a ordenha matutina (7h) e a outra metade após a ordenha vespertina (17h). No período da tarde foram pesados a silagem e os concentrados, sendo estes misturados diretamente no cocho. Os concentrados foram preparados com a inclusão dos aditivos. Na tarde seguinte foram retiradas e pesadas as sobras. A dieta foi fornecida para garantir sobras de 5 a 10% do ofertado.

Os animais foram alocados nas instalações cerca de um mês antes de iniciar o experimento, com a finalidade de adapta-los as instalações. Cada um dos quatro períodos contou com 28 dias, sendo os 21 primeiros dias experimentais destinados à adaptação às respectivas dietas e os últimos sete dias experimentais destinados à coleta de dados, demonstrado na figura 4.

Figura 4. Esquema dos dias experimentais de cada período

4.5 Consumo de Matéria Seca e Amostragens de Alimentos

Os animais foram pesados no primeiro e no último dia de cada período, sendo o consumo de matéria seca (CMS) avaliado diariamente, até o término do experimento. O CMS foi calculado pela diferença entre a quantidade de alimento fornecida em um dia e a sobra do alimento, a qual era coletada e pesada na manhã seguinte ao fornecimento, multiplicada pela porcentagem de matéria seca (MS; Método 930.15; AOAC., 2000) no alimento. A amostragem de alimentos e sobras da dieta fornecida foi realizada semanalmente para análises de MS, matéria mineral (MM método 942.05; AOAC, 2000), proteína bruta (PB; $N \times 6,25$; método 984.13; AOAC, 2000), extrato etéreo (EE; método

920.39; AOAC, 2000), cálcio e fósforo, segundo (AOAC., 2000) e fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) celulose, hemicelulose e lignina segundo Van Soest (1994) e energia bruta (EB; AOAC., 2000), no laboratório de bromatologia do IZ.

4.6 Avaliação dos parâmetros fisiológicos e hormonais

Durante a última semana experimental de cada período foram aferidas as medidas de temperatura do pelame, temperatura retal e frequência respiratória, nas baias, no período da tarde (13:00 horas), antes da ordenha da tarde. A temperatura do pelame (TP) dos animais foi medida na cabeça, no dorso, na canela e no úbere, através de termômetro de infravermelho digital (FLUKE® 63) nas baias. A média ponderada foi calculada atribuindo-se peso de 10% para a cabeça, 70% para o dorso, 12% para a canela e 8% para o úbere, conforme metodologia descrita por Pinheiro et al. (2005), sendo o pelame da canela e cabeça branco e do dorso preto. Para a temperatura retal (TR) foi utilizado um termômetro clínico digital. A frequência respiratória (FR) foi obtida através da contagem de movimentos do flanco direito dos animais durante quinze segundos e depois multiplicado por quatro.

Nos mesmos dias das amostragens de leite para avaliação da composição (22º e 27º dias experimentais), foram colhidas amostras de sangue da artéria e/ou veia coccígea da cauda para determinação dos teores dos hormônios triiodotironina (T₃), tiroxina (T₄) e cortisol no plasma sanguíneo, também às 13:00 horas. As amostras de sangue foram centrifugadas a 1500g durante 15 minutos obtendo-se o plasma, que foi pipetado e estocado em microtubos graduados (2 mL), e mantidos congelados a -20°C. As análises dos hormônios no plasma foram realizadas por meio de quimioluminescência no Laboratório de Diagnósticos e Análises Clínicas de Pirassununga, SP.

4.7 Avaliação dos parâmetros produtivos e composição do leite

Os animais foram submetidos a duas ordenhas diárias, as 7:00 e 16:00 horas. As produções de leite foram registradas diariamente durante todos os períodos experimentais. A produção de leite foi corrigida para 3,5% de gordura (PLC) segundo a fórmula de Sklan et al (1992), onde:

$$PLC = 0,432 + (1,625 \times \text{Teor de gordura do leite}) \times \text{kg de leite}$$

Para a avaliação da composição do leite, no 22º e 27º dia experimental de cada período foi colhido uma amostra de leite em cada uma das ordenhas. Onde a amostragem foi relativa a produção de leite do dia anterior, proporcionalmente as duas ordenhas. As amostras eram acondicionadas em recipiente contendo o conservante bronopol (2-bromo 2-nitropropano 1,3-diol) na proporção de 10mg de princípio ativo para 50 mL de leite, foram resfriadas a 4°C e enviadas para Clínica do Leite/ESALQ/USP, Piracicaba, SP, para realização das análises de sólidos totais (ST), extrato seco desengordurado (ESD), proteína bruta (PB), gordura, nitrogênio não proteico (NNP), lactose foram realizados por infravermelho de acordo com ISO 9622:2013/IDF141:2013 e contagem células somáticas (CCS) por citometria de fluxo, de acordo com ISO 13366-2:2006/IDF148-2:2006 e ureia. O cálculo de ureia foi realizado pela seguinte fórmula $\text{Ureia} = \text{NNP} \times 2,14$.

4.8 Mensuração dos parâmetros da fermentação ruminal

No 28º dia de fornecimento das dietas, a colheita de conteúdo ruminal foi realizada 3 horas após o arraçoamento matutino. Foi retirado 100 mL de líquido ruminal, através de sonda esofágica com auxílio de bomba a vácuo para retirar o líquido, onde realizou-se a mensuração de pH em potenciômetro digital portátil (HANNA instruments HI8424) devidamente calibrado. Do líquido ruminal foi retirado uma alíquota de 2 mL para determinação da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH_3) colocado em tubos de ensaio contendo 1 mL de solução de ácido sulfúrico 1N e armazenado em freezer até a realização das análises por colorimetria, segundo método descrito por Kulasek (1972) e adaptado por Foldager (1977).

Para a determinação dos ácidos graxos de cadeia curta (ácido acético, butírico, propiônico, isobutírico, isovalérico e valérico), uma fração de aproximadamente 100 mL de conteúdo ruminal foi centrifugada a 2000g por 15 minutos; 10 mL do sobrenadante foram colocados em tubo de centrifuga e mantido em freezer (-20 °C) até o momento da análise. Esta foi realizada através de cromatografia gasosa, segundo método descrito por ERWIN et al. (1961 utilizando cromatógrafo a gás (Thermo Scientific®, modelo Focus GC) com injetor automático de amostras (Thermo Electron Corporation®, modelo AS-3000) equipado com coluna de vidro de 2 m de comprimento e 1/5 de polegada (5,08 mm) de diâmetro externo, empacotada com fase estacionária 80/120 Carbopack® B-DA/4% Carbowax® 20M

(Supelco®) e detector de ionização de chama (FID) mantido à 270°C. O forno do cromatógrafo a gás foi mantido a 190°C durante as análises e a temperatura do injetor foi de 220 °C. O gás de arraste era o H₂ de alta pureza, mantido em fluxo de 30 mL/min. O número de repetições por amostra foi aquele necessário para que a diferença entre leituras for inferior a 5%.

4.9 Mensuração dos parâmetros bioquímicos

No mesmo dia experimental da colheita de líquido ruminal foi coletado sangue por punção da veia e/ou artéria coccígea. As amostras foram coletadas, logo após a retirada do líquido ruminal, em tubos vacuolizados (vacutainer) de 10 mL para dosagem dos parâmetros sanguíneos metabólicos triglicerídeos, colesterol total, colesterol-HDL, proteínas totais, albumina, ureia e nitrogênio uréico e tubos com heparina para dosagem de glicose no plasma. Imediatamente após a colheita, as amostras foram centrifugadas a 2000g durante 15 minutos, para a separação do soro e para plasma. O centrifugado obtido foi transferido para tubos plásticos, identificados e armazenados a -20 °C, até o procedimento das análises laboratoriais, quando foram analisados e expressos a 30 °C.

As análises bioquímicas (foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos/USP, por meio de kits comerciais (Randox, modelo Rx daytona, United Kingdom – RANDOX Laboratories Ltda), e a leitura realizada em analisador automático de bioquímica sanguínea (Analisador Bioquímico Automático, Randox, modelo Rx daytona, United Kingdom – RANDOX Laboratories Ltda).

4.10 Avaliação da digestibilidade aparente total

A digestibilidade aparente da matéria orgânica (MO), MS da dieta e suas frações (PB, EE, carboidratos totais, FDN, FDA, celulose, hemicelulose, carboidrato não fibroso, cálcio, fósforo e matéria mineral) foram determinadas por meio de coleta total de fezes por um período de 72h, realizado do 24º ao 26º dia experimental. As fezes eram coletadas e armazenadas em baldes até encher, quando cheios eram pesados, anotado o peso e esvaziados. No final das 72h era somado o total de baldes e retirada a tara dos mesmos, sendo um balde por animal. A amostragem das fezes foi realizada nos períodos da manhã,

tarde, noite e madrugada direto do reto colocada em saco plástico e congelada a -4°C, para a análise bromatológica no laboratório do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa, de acordo com a AOAC (1985, já descrita no consumo de MS), carboidratos totais (CT) foram calculados de acordo com Sniffen et al. (1992) e carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados de acordo com Hall (1998), descritos abaixo. Para obtenção da digestibilidade aparente foi feita através da diferença entre o consumido e o encontrado nas fezes.

$$CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$$

$$CNF = 100 - (\%PB + \%FDN + \%EE + \%MM)$$

Sendo: CT = carboidratos totais,

CNF = carboidratos não fibrosos,

%PB = porcentagem de proteína bruta,

%EE = porcentagem de extrato etéreo,

%MM = porcentagem de matéria mineral,

%FDN = porcentagem de fibra em detergente neutro

5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados de CMS, produção e composição do leite, parâmetros fermentativos e sanguíneos, características fisiológicas e a digestibilidade da MS e suas frações foram analisados pelo programa Statistical Analysis System (Versão 9.3, 2012), sendo anteriormente verificada a normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade das variâncias comparada pelo teste F. Estes dados foram submetidos à análise de variância, pelo PROC MIXED, que contemplou como causas de variação de efeito de fixo o tratamento e interação entre os mesmos e como efeito aleatório período, efeito de animal dentro de quadrado e efeito de quadrado. Quando apresentado efeito de interação entre tratamentos foi utilizado o teste PIDFF a 5% de probabilidade. Quando não apresentado efeito significativo foi considerado tendência acima de 5 até 10% de probabilidade. A tabela da análise de variância encontra-se abaixo. (Tabela 4).

Tabela 4 – Esquema da análise de variância para delineamento em quadrado latino 4x4 replicado com arranjo fatorial 2x2

Causas de variação	Graus de Liberdade
Tratamentos	3
Efeito do óleo funcional	(1)
Efeito da monensina	(1)
Interação (OF*MO)	(1)
Período	3
Animal dentro de quadrado	6
Quadrado	1
Resíduo A	18
Total	31

OF= óleo funcional; MO= Monensina

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Consumo de Matéria Seca

Os parâmetros de consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria seca em relação ao peso vivo (CPV) e em relação ao peso metabólico (CPM) não apresentaram efeito de interação entre os tratamentos OF e MO ($P>0,05$). Entretanto, apresentaram efeito isolado dos tratamentos ($P<0,05$), sendo que a inclusão do óleo funcional aumentou o CMS ($17,17 \pm 0,80$ vs $15,30 \pm 0,69$) e a inclusão de monensina apresentou efeito contrário, ou seja, diminuiu o CMS ($15,57 \pm 0,70$ vs $16,89 \pm 0,83$). Os parâmetros CPV e CPM também sofreram as mesmas influências do óleo funcional e da monensina ($P<0,05$; Tabela 5).

Tabela 5 – Médias e erros padrões das médias dos parâmetros de consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria seca em relação ao peso vivo (CPV) e consumo de matéria seca em relação ao peso metabólico (CPM) de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão

Parâmetros ³	-OF		+OF		EPM ⁴	Probabilidade ²		
	-MO	+MO	-MO	+MO		OF	MO	OF*MO
CMS (kg)	15,65	14,95	18,14	16,19	0,55	0,001	0,010	0,187
CPV (%)	3,10	2,96	3,53	3,16	0,10	0,004	0,017	0,257
CPM (g)	146,62	139,87	167,93	150,22	4,60	0,002	0,014	0,240

¹-OF= sem inclusão de Óleo Funcional, +OF= com inclusão de Óleo Funcional, -MO= sem inclusão de Monensina, +MO= com inclusão de Monensina. ²OF= Efeito do óleo funcional, MO= Efeito da monensina, OF*MO = Efeito de interação entre óleo funcional e monensina, sendo significativo $P<0,05$

O óleo funcional provavelmente estimulou o consumo de alimentos devido a uma maior palatabilidade da dieta e a monensina diminuiu provavelmente devido ao seu sabor amargo (BAILE et al., 1979). Outro fator que pode ter contribuído para inibição do CMS foi a alteração da fermentação ruminal, principalmente a concentração ácido propiônico, que pode aumentar a osmolaridade do ruminoretículo e seus efeitos pós absorptivos (ALLEN, 2000).

Provavelmente, os tratamentos poderiam apresentar melhor CMS e consecutivamente sua produção se o ambiente fosse climatizado, mas ambos atenderam a exigências para a produção de 20L de leite/dia a qual foi formulada a dieta no NRC (2001).

Salles et al. (2008) demonstraram em bezerros da raça holandês que a inclusão de monensina não alterou a CMS em diferentes temperaturas ambientais (24,3°C e 33,2°C), mas apresentou o efeito do CMS nas diferentes temperaturas. Porém, em estudo meta-

analítico a inclusão de monensina pode ocasionar a redução de CMS. (DUFFIELD; RABIEE; LEAN, 2008). A inclusão de óleos funcionais também não demonstraram influência na ingestão de matéria seca (FERREIRA DE JESUS et al., 2016; CONEGLIAN, 2009; JEDLICKA; PUREVJAV; CONOVER, 2009; VALERO et al., 2014). Entretanto, a Inclusão de OF em alguns experimentos com bovinos de corte obtiveram maior CMS (DEVANT et al., 2012; SILVA, 2014; ZAWADZKI, 2013), entretanto, todos estes estudos foram em ambientes climatizados.

6.2 Fermentação Ruminal

Nos parâmetros de fermentação ruminal não houve diferença entre pH e temperatura, ácido graxos de cadeia curta totais e nas concentrações de ácido acético, ácido butírico, isobutírico e valérico ($P>0,05$). Em relação ao ácido propiônico e isovalérico, apresentaram efeito com a adição de monensina, onde sua inclusão aumentou a quantidade ($P<0,05$) e tendência na proporção de ácido propiônico ($P=0,0588$), esse aumento do propiônico consecutivamente diminuiu a razão acético: propiônico ($P<0,05$) apresentado na Tabela 6.

O pH ruminal tende a ser menor na presença de monensina em sua dieta ($6,54\pm0,09$) do que na sua ausência ($6,70\pm0,08$; $P<0,10$). As porcentagens de ácidos acético, propiônico e valérico também apresentaram tendência ($P<0,10$) na adição de monensina, sendo que a inclusão de monensina diminuiu a porcentagem de ácido acético e valérico ($61,32\pm0,82$; $1,06\pm0,03$ respectivamente) em relação à sem aditivo ($62,63\pm0,76$; $1,17\pm0,06$ respectivamente) e um aumento na porcentagem de propiônico quando usado a monensina como aditivo ($23,69\pm0,98$ vs $21,58\pm0,97$). A alteração do pH ($P<0,10$) provavelmente foi ocasionado pelo aumento da quantidade de AGCC ($P<0,05$) sendo a alteração das proporções é esperada já que a monensina afeta as bactérias gram positivas, fermentadoras de acetato.

O pH de todos os tratamentos esteve dentro dos padrões que garante a motilidade e digestibilidade da fibra, sendo que, pH abaixo de 6,2 inibi a ação de bactérias fibrolíticas (ORSKOV, 1988). Estudos com adição de óleo essencial (Crina® Ruminants) e monensina em vacas lactantes apresentou aumento do pH ruminal quando adicionado o óleo (BENCHAAR et al., 2006a). Ferreira de Jesus et al. (2016) avaliaram vacas no terço médio da lactação com a inclusão de aditivos óleo funcional (Essential® Oligo Basics), monensina e sem aditivo também não encontraram diferença no pH ruminal, porém demonstraram maior

proporção de ácido propiônico com inclusão dos aditivos, este resultado difere do presente estudo onde apenas a inclusão de monensina foi capaz de alterar a fermentação ruminal.

Tabela 6 – Médias e erros padrões das médias dos parâmetros de fermentação ruminal de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão

Parâmetros ³	-OF ¹		+OF		EPM ⁴	Probabilidade ²		
	-MO	+MO	-MO	+MO		OF	MO	OF*MO
pH	6,71	6,47	6,69	6,60	0,06	0,529	0,065	0,400
NH ₃	2,76	3,47	3,57	2,97	0,23	0,698	0,888	0,115
Acético (mM)	47,36	49,90	44,19	49,02	2,29	0,598	0,342	0,765
Isobutírico (mM)	0,94	0,90	0,97	1,06	0,06	0,362	0,819	0,567
Butírico (mM)	8,89	9,215	8,31	8,64	0,51	0,495	0,700	0,998
Propiônico (mM)	16,64	18,30	14,44	19,91	0,92	0,783	0,003	0,085
Isovalérico (mM)	1,32	1,48	1,15	1,42	0,07	0,261	0,042	0,589
Valérico (mM)	0,91	0,91	0,82	0,89	0,05	0,649	0,879	0,353
AGCCtotais ⁵	76,07	80,66	69,89	80,94	3,59	0,593	0,164	0,558
<i>Teor</i>								
Acético (%)	62,04	61,71	63,21	60,93	0,56	0,781	0,078	0,180
Isobutírico (%)	1,29	1,14	1,36	1,30	0,05	0,235	0,272	0,668
Butírico (%)	11,35	11,29	11,83	10,53	0,29	0,795	0,224	0,262
Propiônico (%)	22,37	22,93	20,79	24,46	0,70	0,981	0,059	0,154
Isovalérico (%)	1,77	1,88	1,65	1,70	0,07	0,230	0,495	0,819
Valérico (%)	1,18	1,05	1,15	1,08	0,04	0,912	0,086	0,628
Acético: Propiônico	2,87	2,78	3,12	2,55	0,10	0,948	0,039	0,124

¹-OF= sem inclusão de Óleo Funcional, +OF= com inclusão de Óleo Funcional, -MO= sem inclusão de Monensina, +MO= com inclusão de Monensina. ²OF= Efeito do óleo funcional, MO= Efeito da monensina, OF*MO = Efeito de interação entre óleo funcional e monensina, sendo significativo $P<0,05$. ³T= Temperatura ruminal. ⁴EPM= Erro Padrão da Média. ⁵AGCCtotais= ácidos graxos de cadeia curta totais.

A inclusão do óleo funcional não demonstrou efeito significativo na fermentação ruminal, isso pode ter ocorrido, devido as coletas das amostras que eram feitas em apenas um horário do dia, podendo ter alterado a fermentação ruminal, como pode ser observado no estudo conduzido por Ferreira de Jesus et al. (2016) onde observaram uma maior concentração de propionato a partir de 10h após a alimentação matutina.

6.3 Parâmetros bioquímicos

Os parâmetros bioquímicos não apresentaram interação dos tratamentos, para as variáveis analisadas, com exceção dos ácidos graxos não esterificados (NEFA; $P<0,05$), onde as inclusões dos aditivos diminuíram a quantidade dos mesmos em relação à não

inclusão. Além disso, pode ser considerada uma tendência ($P<0,10$) na inclusão do óleo funcional na quantidade de glicose ($47,62\pm1,25$ vs $50,44\pm1,05$), GGT ($27,00\pm2,90$ vs $36,06\pm5,86$), AST ($80,80\pm4,00$ vs $96,25\pm10,15$).

O tratamento com monensina também apresentou tendências ($P<0,10$) para o aspartato-aminotransferase (AST; $95,33\pm10,04$ vs $82,63\pm5,60$) e proteína ($7,36\pm0,16$ vs $7,64\pm0,07$). Referente a lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) houve de interação ($P<0,10$) entre os tratamentos, sendo que a inclusão de óleo funcional na ausência de monensina altera o VLDL ($P=0,5628$). O mesmo ocorre com a monensina sem inclusão de OF ($P=0,6504$). Porém quando incluído OF na presença de MO ocorre a diminuição da concentração do VLDL ($P=0,0770$) e a MO na presença do OF aumenta a concentração ($P=0,0603$).

Tabela 7 – Médias e erros padrões das médias dos parâmetros bioquímicos de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão

Variável ³	-OF ¹		+OF		EPM ⁴	Probabilidade ²		
	-MO	+MO	-MO	+MO		OF	MO	OF*MO
Glic (mg/dl)	47,11	48,13	49,46	51,17	0,86	0,070	0,203	0,622
Ureia (mg/dl)	36,65	35,26	35,59	36,69	1,27	0,926	0,984	0,376
Crea (mg/dl)	1,08	1,02	1,11	1,08	0,02	0,344	0,280	0,814
Albu (mg/dl)	3,35	3,37	3,39	3,31	0,03	0,762	0,546	0,234
GGT (U/l)	34,62	37,50	22,75	31,25	3,31	0,097	0,288	0,596
AST (U/l)	85,75	106,75	79,50	82,28	5,67	0,076	0,086	0,296
NEFA (mM/l)	0,12 ^a	0,09 ^b	0,09 ^b	0,09 ^b	0,01	0,002	0,007	0,050
Prot (mg/l)	7,67	7,53	7,61	7,18	0,09	0,209	0,096	0,373
Trig (mg/l)	6,85	7,03	7,11	5,94	0,25	0,155	0,105	0,148
Cole (mg/l)	139,55	133,22	117,39	124,19	7,42	0,307	0,987	0,664
HDL (mM/l)	2,00	2,00	1,83	1,88	0,10	0,488	0,910	0,910
VLDL (mg/l)*	1,35 ^{ab}	1,40 ^a	1,42 ^a	1,19 ^b	0,05	0,375	0,289	0,098
LDL (mg/l)	136,20	129,82	114,13	121,12	7,31	0,306	0,984	0,653

¹-OF= sem inclusão de Óleo Funcional, +OF= com inclusão de Óleo Funcional, -MO= sem inclusão de Monensina, +MO= com inclusão de Monensina. ²OF= Efeito do óleo funcional, MO= Efeito da monensina, OF*MO = Efeito de interação entre óleo funcional e monensina, sendo significativo $P<0,05$. ³GLIC = Glicose, NITRO = Nitrogenio, CREA = Creatinina, ALBU = Albumina, GGT = Gama Glutamiltransferase, AST = aspartato-aminotransferase, NEFA = Ácidos Graxos Não Esterificados, PROT = Proteína, TRIG = Triglicerídeos Totais, COLE = Colesterol, HDL = Lipoproteínas de Alta Densidade, VLDL = Lipoproteínas de Muito Baixa Densidade e LDL Lipoproteínas de Baixa Densidade. ⁴EPM= Erro Padrão da Média. ^{ab} Letras subscritas diferem significativamente para o teste de PDDIF ($P<0,05$), *considerado tendência $P<0,10$ para o teste de PDIFF.

Quando as vacas estão sobre estresse térmico ocorre a diminuição do CMS e um aumento do NEFA plasmático, isto ocorre como estratégia para suprir a necessidade de atender as exigências energéticas e consecutivamente ocorre uma diminuição da glicose

(LAMP et al., 2015). Baumgard et al. (2011) avaliaram dois grupos com e sem adição de monensina em diferentes períodos e estresse térmico demonstraram que o NEFA não apresentou efeito de estresse calórico, porém, apresentou efeito de dieta e não encontraram diferença na quantidade de glicose.

A lipólise do NEFA provenientes de lipólise são oxidados ou re-esterificados no fígado e armazenado no mesmo (QU et al., 2015). O excesso de triglicerídeos armazenado no fígado é enviado principalmente, através do VLDL (MAZUR et al., 1992). As vacas, deste experimento, com a inclusão dos aditivos provavelmente estão fazendo a lipólise de NEFA, principalmente o tratamento com óleo essencial o qual aumentou sua concentração de VLDL. A glicose em ruminantes é proveniente da fermentação ruminal de carboidratos o qual utiliza o ácido propiônico como substrato para sua síntese no fígado (VAN SOEST, 1994), sendo a glicemia regulada pelo sistema endócrino o qual é responsável pela utilização da glicose pelos diferentes tecidos, principalmente a glândula mamaria a qual utiliza como fonte de energia apenas este substrato (PAYNE, J. M. e PAYNE, 1987) .

Figura 5 – Efeito de interação entre Óleo Funcional (-OF= sem inclusão de Óleo Funcional e +OF= com inclusão de Óleo Funcional) e Monensina (-MO= sem inclusão de Monensina, +MO= com inclusão de Monensina) na quantidade de NEFA (mg/dL) de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão. ^{ab} Letras subscritas Diferem significativamente para o teste de PDDIF ($P < 0,05$).

Figura 6 – Tendência de interação entre Óleo Funcional (-OF= sem inclusão de Óleo Funcional e +OF= com inclusão de Óleo Funcional) e Monensina (-MO= sem inclusão de Monensina, +MO= com inclusão de Monensina) na quantidade de VLDL (mg/L) de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão. ^{ab} Letras subscritas Diferem significativamente para o teste de PDDIF ($P < 0,10$).

A inclusão do óleo funcional (Essential® Oligo Basics) e monensina não alterou a glicemia, AST e GGT em vacas alimentadas com silagem de milho e concentrado em *free-stall* climatizados (FERREIRA DE JESUS et al., 2016), o que não corrobora com Da Silva et al. (2007) que observaram valores mais elevados (66 mg/dL) para glicose. Outro fator que deve ser considerado é que o aumento da concentração de glicose e do VLDL pode ser consequência da alteração do CMS, onde os animais consomem mais alimentos assim permite maior concentração de metabolitos.

Os valores de triglicerídeos e glicose encontrados no experimento estão de acordo com Kaneko, Harvey e Bruss (1997) que oscilam entre zero e 14 mg/dL, e 45 e 75 mg/dL, respectivamente. A inclusão de óleo funcional (Essential® Oligo Basics) e monensina não influenciou ($P > 0,05$) nas concentrações de AST e GGT demonstrando que ambos aditivos não demonstraram toxicidade as vacas. De acordo com Lassen (2007), vacas com lesões

hepáticas ou musculares apresentam atividade da AST aumentada e a GGT é uma enzima mais específica para lesões hepáticas.

6.4 Digestibilidade aparente

A digestibilidade aparente das frações não apresentaram interação e nem efeito dos tratamentos ($P>0,05$) para digestibilidade da matéria orgânica (DMO), digestibilidade da matéria seca (DMS), digestibilidade da proteína bruta (DPB), digestibilidade de extrato não nitrogenado (DENN), digestibilidade de fibra solúvel em detergente neutro (DFDN) e ácido (DFDA), digestibilidade da celulose (DCEL), digestibilidade do carboidrato não fibroso (DCNF), digestibilidade do extrato etéreo (DEE), digestibilidade dos nutrientes digestíveis totais (DNDT), digestibilidade da energia bruta (DEB). Porém, a inclusão do óleo funcional apresentou uma tendência ($P<0,10$) em diminuir a DFDN e DFDA ($49,10 \pm 2,73$ vs $54,06 \pm 1,91$; $41,41 \pm 3,49$ vs $47,55 \pm 2,10$; respectivamente).

Tabela 8 – Médias e erros padrões das médias dos parâmetros de digestibilidade de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão

Parâmetros ³	-OF ¹		+OF		EPM ⁴	Probabilidade ²		
	-MO	+MO	-MO	+MO		OF	MO	OF*MO
MO	64,21	63,05	60,21	61,05	1,08	0,170	0,914	0,642
MS	63,70	62,74	59,77	60,56	1,06	0,150	0,926	0,680
PB	67,45	66,70	65,88	67,43	1,01	0,821	0,881	0,587
FDA	47,73	47,36	39,94	43,10	2,05	0,095	0,597	0,524
FDN	54,42	53,70	48,92	49,27	1,70	0,096	0,905	0,855
CT	66,64	66,35	62,70	65,01	1,03	0,213	0,626	0,535
CNF	87,82	85,67	87,19	94,32	1,88	0,313	0,675	0,202
EE	65,38	66,60	65,19	63,90	1,65	0,624	0,979	0,819
EB	65,64	64,65	62,14	64,58	1,01	0,394	0,728	0,412
NDT	63,65	63,33	60,17	61,52	1,01	0,213	0,807	0,691

¹-OF = sem inclusão de Óleo Funcional, +OF = com inclusão de Óleo Funcional, -MO = sem inclusão de Monensina, +MO = com inclusão de Monensina. ²OF = Efeito do óleo funcional, MO = Efeito da monensina, OF*MO = Efeito de interação entre óleo funcional e monensina, sendo significativo $P<0,05$.

³MO = Matéria orgânica, MS = Matéria Seca, PB = Proteína Bruta, N = Nitrogênio, ENN = Extrato Não Nitrogenado, FDA = Fibra Digestíveis em Detergente Ácido FDN = Fibra Digestíveis em Detergente Neutro, CE = Celulose, HEMICEL = Hemicelulose, CT = Carboidratos totais, CNF = Carboidratos Não Fibrosos, EE = Extrato Etéreo, NDT = Nutrientes Digestíveis Totais, EB = Energia Bruta, MM = Matéria Mineral, Ca = Cálcio, P = Fósforo. ⁴EPM = Erro Padrão da Média.

A diminuição da digestibilidade do FDN e FDA pode ser proveniente do aumento do fluxo do trato gastrointestinal onde o maior CMS proporciona uma taxa maior de *turnover*, assim afetando a digestibilidade.

De acordo com Plaizier et al. (2000) a inclusão de monensina pode aumentar a digestibilidade aparente da FDN e FDA em vacas alimentadas com alta proporção de forragens e não com alto proporção de concentrado, isto provavelmente ocorre devido ao aumento do pH ruminal e reduz a degradação ruminal de proteínas e a concentração de amônia, onde neste experimento não se observou esse efeito.

Benchaa et al. (2006) avaliaram a adição de óleo essencial (Crina Ruminants®; 2 g/dia) e/ou monensina sódica (350 mg/dia) na dieta de vacas lactantes, terço médio, e não encontraram significância no efeito dos aditivos sobre a digestibilidade da MS, MO e FDN e Ferreira de Jesus et al. (2016) também não encontraram diferença sobre os coeficientes de digestibilidade da MS, PB, EE e FDN onde seus tratamentos eram (Essential® Oligo Basics) e monensina nas mesmas proporções deste trabalho.

6.5 Produção e Composição de leite

Referente as variáveis de produção ocorreram interação dos tratamentos ($P < 0,05$) na produção de leite (PL), produção de leite corrigida a 3,5% (PLC) e quantidade de gordura. A quantidade de proteína e lactose e porcentagem de proteína e extrato seco desengordurado (ESD) do leite obtiveram efeito na inclusão do óleo funcional ($P < 0,05$) e a inclusão de monensina influenciou a eficiência produtiva e os teores de gordura e sólidos totais do leite ($P < 0,05$). As demais variáveis, quantidade de ureia e nitrogênio uréico do leite e contagem de células somáticas (CCS) e teor de lactose do leite não apresentaram efeito significativos de interação e nem dos tratamentos ($P > 0,05$), como é possível observar na Tabela 5.

O OF sem a MO apresentou um aumento na produção de leite ($P = 0,001$). Entretanto quando incluiu a MO o OF perdeu esse efeito ($P = 0,0777$), ou seja, quando o OF é ofertado em conjunto com a MO não altera a produção de leite, apesar da diferença numérica. Considerando a MO, foi possível observar um aumento na produção de leite na presença de OF ($P = 0,0709$) e sem efeito na ausência de OF ($P = 0,2806$; Figura 7).

A presença de MO inibiu o efeito do OF na PLC ($P = 0,4458$), e não houve aumento na produção. Já na ausência de MO o efeito do OF foi significativo ($P = 0,0001$) aumentando a

PLC. Quando referido a MO a inclusão de OF aumenta a PLC ($P=0,004$), e sem OF este aditivo não tem efeito significativo, não altera a PLC ($P=0,9076$; Figura 8).

A quantidade de gordura apresentou os mesmos efeitos da PLC, ou seja, o OF sem a inclusão de MO obteve maior quantidade de gordura ($P=0,0028$) e a inclusão MO inibiu este efeito ($P=0,9450$). A inclusão do aditivo MO da mesma forma já descrita no PLC, a adição de OF incrementou a quantidade de gordura do leite ($P=0,0007$) e sem a adição não foi significativo ($P=0,5141$; Figura 9).

Considerando os efeitos individuais dos tratamentos o OF aumentou ($P<0,05$) a produção de proteína ($0,69 \pm 0,03$ vs $0,60 \pm 0,03$) e de lactose ($0,96 \pm 0,04$ vs $0,86 \pm 0,03$) e o teor de proteína ($3,25 \pm 0,08$ vs $3,17 \pm 0,08$), não alterando o teor de sólidos totais (ST, $P>0,05$) e um maior teor de extrato seco desengordurado ($8,75 \pm 0,11$ vs $8,64 \pm 0,10$; $P<0,05$). A adição da monensina diminui o teor de gordura do leite de $3,96 \pm 0,13$ para $3,56 \pm 0,16$, também ocasionando uma diminuição no teor de sólidos totais $12,64 \pm 0,22$ para $12,27 \pm 0,25$.

Tabela 9 – Médias e erros padrões das médias dos parâmetros de produção e composição de leite de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão

Variáveis ³	1-OF		+OF		EPM ⁴	Probabilidade ²		
	-MO	+MO	-MO	+MO		OF	MO	OF*MO
PL (kg/dia)	18,74 ^b	19,45 ^b	21,89 ^a	20,65 ^{ab}	0,60	<,001	0,575	0,046
PLC (kg/dia)	20,10 ^b	20,02 ^b	23,58 ^a	20,56 ^b	0,74	0,001	0,006	0,008
EP (kg leite/CMS)	1,22	1,30	1,21	1,30	0,03	0,923	0,032	0,882
Gor (kg)	0,74 ^b	0,72 ^b	0,86 ^a	0,72 ^b	0,03	0,023	0,003	0,029
Prot (kg)	0,59	0,62	0,71	0,67	0,02	<,001	0,768	0,057
Lac (kg)	0,84	0,88	0,98	0,93	0,03	<,001	0,868	0,080
Ureia (mg/dL)	32,88	33,09	29,79	34,09	1,06	0,449	0,111	0,147
NU (mg/dL)	15,36	15,46	13,92	15,93	0,49	0,450	0,111	0,147
CCS (x mil/mL)	121,06	149,75	102,31	136,50	17,66	0,549	0,143	0,816
Teores								
Gor (%)	3,94	3,69	3,99	3,44	0,10	0,408	0,004	0,242
Prot (%)	3,15	3,20	3,27	3,23	0,05	0,028	0,849	0,141
Lac (%)	4,46	4,49	4,53	4,51	0,04	0,123	0,815	0,435
ST (%)	12,53	12,36	12,75	12,17	0,17	0,928	0,005	0,093
ESD (%)	8,59	8,68	8,77	8,73	0,07	0,016	0,617	0,175

¹-OF= sem inclusão de Óleo Funcional, +OF= com inclusão de Óleo Funcional, -MO= sem inclusão de Monensina, +MO= com inclusão de Monensina. ²OF= Efeito do óleo funcional, MO= Efeito da monensina, OF*MO = Efeito de interação entre óleo funcional e monensina, sendo significativo $P<0,05$. ³PL= Produção de Leite, PLC= Produção de Leite Corrigida para 3,5% de gordura, EP= Eficiência Produtiva, Gor= Gordura, Prot= Proteína, Lac= Lactose, ST= Sólidos Totais, ESD= Extrato Seco Desengordurado, CCS= Contagem de célula somática, NU= Nitrogênio Uréico. ⁴EPM= Erro Padrão da Média. ^{ab} Letras subscritas Diferem significativamente para o teste de PDDIF ($P<0,05$).

Apesar dos efeitos da diminuição da produção de leite e de quantidade de gordura, a eficiência produtiva (EP) foi melhor ($P<0,05$) no tratamento com MO ($1,30 \pm 0,04$) do que sem esse aditivo ($1,22 \pm 0,05$), ou seja, os animais com um quilo de matéria seca ingerida consegue produzir mais leite.

Provavelmente, as alterações ocorridas na inclusão OF e MO é proveniente da maior ingestão de matéria seca e possivelmente, da alteração da fermentação ruminal, permitindo um aumento da produção de leite e sua composição.

Em estudo com a inclusão de monensina em vacas estressadas por calor não apresentou efeito do aditivo sobre os parâmetros produtivos, porém, o estresse diminuiu a produção de leite (BAUMGARD et al., 2011). Pimentel et al. (2007) também não encontraram efeito da inclusão de castanha de caju na dieta de vacas Pardo-Suiça na produção de leite e eficiência produtiva.

Broderick (2004) não observou diferença para teor e quantidade de gordura e PLC em vacas alimentadas com silagem de alfafa com inclusão de 10 mg/kg da MS de monensina em ambientes climatizados. Em um estudo meta-analítico concluiu-se que a monensina sódica pode não alterar a quantidade de gordura, mas pode reduzir em até 0,12% o teor de gordura e o teor de proteína (DUFFIELD; RABIEE; LEAN, 2008). No presente estudo, a inclusão de óleo funcional não alterou ($P>0,05$) o teor de proteína no leite das vacas, mas aumentou ($P<0,05$) a produção de proteína e produção de leite. As vacas alimentadas com monensina sódica tiveram redução ($P<0,05$) do teor de gordura do leite, assim como relatado por estes autores.

Ferreira de Jesus et al. (2016) utilizando quase os mesmos tratamentos deste experimento, onde só não incluiu a adição e OF conjugado com MO, em vacas climatizadas, relataram que as vacas com OF e MO apresentaram maior produção de leite, proteína e lactose (kg/dia) quando comparadas às vacas do tratamento controle, a MO também reduziu a lactose comparada com OF e o teor de gordura em relação ao controle.

A lactose é um dos principais componentes osmóticos do leite, ou seja, seu aumento é acompanhado pelo aumento da produção de leite. A síntese destes componentes na glândula mamaria está relacionado diretamente com a gliconeogênese hepática, a qual seu principal substrato é o propionato, a concentração deste ácido graxo de cadeia curta pode aumentar com a utilização de aditivos (ELLIS et al., 2012; IPHARRAGUERRE; CLARK, 2003). Em relação a diminuição de gordura Phipps et al. (2000) associam essa redução devido ao teor de ácido acético no rúmen, já que este é o precursor da gordura do leite junto

com o betahidroxibutirado e incorporação direta através da circulação sanguínea (HARVATINE; BOISCLAIR; BAUMAN, 2009).

A contagem de células somáticas (CCS) não sofreu influência dos tratamentos, porém, seus valores estão acima do recomendado pela Instrução Normativa n° 62 (BRASIL, 2011). Wegner et al. (1976) correlacionaram a ocorrência de mastite, com o aumento da CCS no leite e o escore do Califórnia Mastite Teste em vacas submetidas a estresse térmico prolongado. Entretanto, Porcionato et al. (2009) relataram que o estresse térmico não tem relação direta com o aumento da CCS, o que ocorre é que nos períodos mais quentes e úmidos (verão) as vacas estão mais expostas aos patógenos e o estresse térmico crônico aumenta os níveis de cortisol o qual inibe o sistema imunológico, deixando as vacas susceptíveis as doenças e infecções (RUSSI et al., 2011).

Figura 7 – Efeito de interação entre Óleo Funcional (-OF= sem inclusão de Óleo Funcional e +OF= com inclusão de Óleo Funcional) e Monensina (-MO= sem inclusão de Monensina, +MO= com inclusão de Monensina) na produção de leite (kg) de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão. ^{ab} Letras subscritas Diferem significativamente para o teste de PDDIF (P<0,05).

Figura 8 – Efeito de interação entre Óleo Funcional (-OF= sem inclusão de Óleo Funcional e +OF= com inclusão de Óleo Funcional) e Monensina (-MO= sem inclusão de Monensina, +MO= com inclusão de Monensina) na produção de leite corrigida a 3,5% de gordura (kg) de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão.

Figura 9 – Efeito de interação entre Óleo Funcional (-OF= sem inclusão de Óleo Funcional e +OF= com inclusão de Óleo Funcional) e Monensina (-MO= sem inclusão de Monensina, +MO= com inclusão de Monensina) na quantidade de gordura (kg) de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão.

6.6 Parâmetros fisiológicos

Os parâmetros fisiológicos frequência respiratória (FR), temperatura do pelame (TP), temperatura retal (TR), cortisol, tiroxina (T₄) e triiodotironina (T₃), não sofreram efeito da interação entre os tratamentos ($P>0,05$). O tratamento com inclusão de monensina e óleo funcional também não foram significativos ($P>0,05$), com exceções da FR que foi maior no tratamento com a inclusão de óleo funcional (70 ± 3 mov/min) do que sem a inclusão (63 ± 4 mov/min; $P<0,05$), e T₄ ocorreu o mesmo efeito ($65,96 \pm 0,23$ vs $59,34 \pm 0,21$ ng/mL; $P<0,05$). O aumento de T₄ no tratamento +OF provavelmente foi devido ao aumento do CMS, os sendo que os hormônios T₄ e T₃, são diretamente influenciados pela nutrição animal (DUKES, 2006); T₄ aumenta a respiração celular (aumento do oxigênio celular) e altera o metabolismo, como ocorreu com a FR, o qual seu aumento foi suficiente para manter temperatura corpórea (Tabela 10) e incrementar a produção (DUKES, 2006).

Tabela 10 – Médias e erros padrões das médias dos parâmetros fisiológicos de vacas lactantes adaptadas à dieta durante o verão

Parâmetro ³	-OF ¹		+OF		EPM ⁴	Probabilidade ²		
	-MO	+MO	-MO	+MO		OF	MO	OF*MO
FR (mov/min)	63	63	71	69	2,42	0,001	0,724	0,549
TP (°C)	36,26	36,43	36,45	36,45	0,18	0,370	0,458	0,463
TR (°C)	38,44	38,49	38,57	38,66	0,09	0,103	0,424	0,784
Cortisol (ng/mL)	7,29	5,66	7,43	8,45	0,68	0,147	0,754	0,187
T ₃ (ng/mL)	1,44	1,45	1,44	1,46	0,03	0,980	0,751	0,932
T ₄ (ng/mL)	59,62	59,06	67,24	64,69	1,64	0,010	0,503	0,670

¹-OF= sem inclusão de Óleo Funcional, +OF= com inclusão de Óleo Funcional, -MO= sem inclusão de Monensina, +MO= com inclusão de Monensina. ²OF= Efeito do óleo funcional, MO= Efeito da monensina, OF*MO = Efeito de interação entre óleo funcional e monensina, sendo significativo $P<0,05$. ³FR= Frequência Respiratória, TP=Temperatura do Pelame, TR= Temperatura Retal. ⁴EPM= Erro Padrão da Média.

O nível de ITU apresentado no experimento foi de moderado (71 a 78) a perigoso (79 a 83). Como descrito por Du Preez (2000) em vacas sob curta exposição ao estresse térmico tem aumento nas concentrações de cortisol e quando a exposição é crônica a concentração diminui quando comparada a animais em termoneutralidade (CHRISTISON; JOHNSON, 1972). As vacas utilizadas para esse estudo apresentaram concentrações de cortisol de 7,21 ng/mL valor este que pode ser considerado alto, onde o normal é de aproximadamente 3,5 ng/mL (SMITH, 1993). Essa elevação pode ter ocorrido devido ao manejo na colheita de sangue.

Arcaro Jr et al. (2003) encontraram valores de cortisol semelhantes, quando utilizaram ventilação e aspersão na sala de espera da ordenha em vacas, nos demais tratamentos (controle e apenas ventilação) foram mais elevados, em relação aos hormônios tireoidianos apresentaram-se elevados em todos os tratamentos.

Considerando os níveis de T3 e T4 estariam abaixo do normal 41 a 73 µg/dL e 3,6 a 8,9 µg/mL, respectivamente (SMITH, 1993). Essa baixa concentração dos hormônios tireoidianos diminui a taxa metabólica, ocasionando mudanças nas funções corporais, como por exemplo a frequência respiratória.

As temperaturas retais estão de acordo com o estudo de Du Preez (2000) que é de 38 a 39,5°. A temperatura do pelame deste trabalho foi maior do que a observada por Pinheiro et al. (2005) a qual submeteram vacas da raça Jersey a dois esquemas de manejo diferentes, com acesso a sala de espera ou sem, ou seja, as formas de perda de calor para manter a temperatura estão eficientes.

O incremento na FR do tratamento OF foi capaz de eliminar o calor para manter a temperatura corpórea dos animais apresentando valores próximo ao encontrado por Almeida et al. (2011) em animais controle no período da tarde avaliando vacas com e sem resfriamento adiabático.

Baumgard et al. (2011) avaliaram a adaptação de vacas lactantes suplementados com monensina e encontraram valores de taxa respiratória, quanto maior e temperatura do pelame menor que as observadas nesse estudo e encontrou efeito na inclusão da monensina apenas na temperatura retal em diferentes horários. Salles et al. (2008) estudaram em bezerros da raça holandês a inclusão do mesmo aditivo e também não encontraram efeito do aditivo nas características fisiológicas e hormonais.

Pimentel et al. (2007) utilizaram a inclusão da castanha de caju nas porcentagens da MS do concentrado de 0, 8, 16, e 24 % e observaram diferenças na FR entre os tratamentos de 16% e 24%, e sugerem que essa maior frequência ocorreu devido a maior ingestão de matéria seca, semelhante ao ocorrido neste experimento quando incluído OF neste experimento, aumentou o CMS e respectivamente a FR.

7 CONCLUSÕES

A inclusão do óleo funcional na dieta de vacas lactantes no verão foi capaz de aumentar a produção de leite e alterar a composição e não alterou a fermentação ruminal, ocasionando alteração dos parâmetros fisiológicos e hormonais sem alterar o bem-estar animal.

A inclusão de monensina melhorou a eficiência produtiva e a fermentação ruminal com o aumento da concentração do propionato e não alterando os parâmetros fisiológicos no presente estudo, também podendo ser utilizada em dietas de animais no período de verão.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, M. S. Effects of Diet on Short-Term Regulation of Feed Intake by Lactating Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 7, p. 1598–1624, 2000.
- ALMEIDA, G. L. P. DE et al. Uso do sistema de resfriamento adiabático evaporativo no conforto térmico de vacas da raça girolando. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 7, p. 754–760, 2011.
- AMARAL, R. D. S. **Efeitos da climatização das salas de espera e de ordenha na produção e composição do leite e em algumas variáveis fisiológicas de vacas mestiças holandês-zebu**. 2008. 98 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Campus de Itapetinga, Itapetinga, 2008.
- AOAC. **ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis**. 17. ed. Gaithersburg, MD, USA, Association of Analytical Communities: 2000
- ARANTES, A. O. et al. Efeitos da Condição de Estresse em Bovinos de Corte. **Scientific Electronic Archives**, v. 3, p. 63–72, 2013.
- ARCARO JR, I. et al. Teores plasmáticos de hormônios, produção e composição do leite em sala de espera climatizada. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 7, n. 2, p. 350–354, 2003.
- ARCARO JÚNIOR, I. et al. Respostas fisiológicas de vacas em lactação à ventilação e aspersão na sala de espera¹. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 35, n. 3, p. 639–643, 2005.
- ARMSTRONG, D. V. Heat Stress Interaction with Shade and Cooling. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 7, p. 2044–2050, jul. 1994.
- AZEVEDO, M. DE; et al. Estimativa de Níveis Críticos Superiores do Índice de Temperatura e Umidade para Vacas Leiteiras 1 / 2 , 3 / 4 e 7 / 8 Holandês-Zebu em Lactação 1. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 2000–2008, 2005.
- BACCARI JUNIOR, F. **Manejo ambiental de vaca leiteira em climas quentes**. Londrina: Universidade Estadual de Londrina: [s.n.].
- BAILE, C. A. et al. Feeding behavior changes of cattle during introduction of monensin with roughage or concentrate diets. **Journal of Animal Science, Champaign**, v. 48, n. 6, p. 1501–1508, 1979.
- BAUMGARD, L. H. et al. Postabsorptive carbohydrate adaptations to heat stress and monensin supplementation in lactating Holstein cows. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 11, p. 5620–33, 2011.
- BELTRÃO, N. E. M. et al. **Mamona: Árvore do Conhecimento e Sistemas de Produção para o Semiárido Brasileiro**. Campina Grande, PB: MAPA: 2003

BENCHAAAR, C. et al. 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**, v. 89, n. 11, p. 4352–4364, 2006a.

BENCHAAAR, C. et al. 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**, v. 89, n. 11, p. 4352–4364, Nov. 2006b.

BENCHAAAR, C. et al. Effects of Essential Oils on Digestion, Ruminal Fermentation, Rumen Microbial Populations, Milk Production, and Milk Composition in Dairy Cows Fed Alfalfa Silage or Corn Silage. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 2, p. 886–897, fev. 2007.

BENCHAAAR, C. et al. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, n. 1–4, p. 209–228, 2008.

BENCHAAAR, C.; DUYNISVELD, J. L.; CHARMLEY, E. Effects of monensin and increasing dose levels of a mixture of essential oil compounds on intake, digestion and growth performance of beef cattle. **Canadian Journal Animal Science**, v. 96, p. 86–91, 2006.

BERRY, I. L.; SHANKLIN, M. D.; JOHNSON, H. D. Dairy Shelter Design Based on Milk Production Decline as Affected by Temperature and Humidity. **Transactions of the American Society of Agricultural Engineers**, v. 7; p. 329–331, 1964.

BOND, G. B. et al. Métodos de diagnóstico e pontos críticos de bem-estar de bovinos leiteiros. **Ciência Rural**, v. 42, n. 7, p. 1286–1293, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa no 62 de 29 de dezembro de 2011**, [s.d.].

BRASIL, A. F. **Efeito da Adição de Castanha de Caju na Dieta sobre a Atividade Reprodutiva no Pós-parto de Vacas Leiteiras Criadas no Semiárido**. 2003 46f. Dissertação (Mestrado) apresentada à Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza-CE, 2003.

BRODERICK, G. A. Effect of Low Level Monensin Supplementation on the Production of Dairy Cows Fed Alfalfa Silage. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 359–368, 2004.

BROWN-BRANDL, T. M. et al. Dynamic Response Indicators of Heat Stress in Shaded and Non-shaded Feedlot Cattle, Part 1: Analyses of Indicators. **Biosystems Engineering**, v. 90, n. 4, p. 451–462, 2005.

BUSQUET, M. et al. Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 7, p. 2508–16, jul. 2005.

CAMPOS, A. T. et al. Estudo do potencial de redução da temperatura do ar por meio do sistema de resfriamento adiabático evaporativo na região de Maringá-PR. **Acta Scientiarum**, v. 24, n. 5, p. 1575–1581, 2002.

CAMPOS, R. et al. Parâmetros hematológicos e níveis de cortisol plasmático em vacas leiteiras de alta produção no Sul do Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 5, p. 354, 1 out. 2008.

CARDOZO, P. W. et al. Effects of natural plant extracts on ruminal protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. **Journal of animal science**, v. 82, n. 11, p. 3230–6, nov. 2004.

CASTILLEJOS, L. et al. Effects of a specific blend of essential oil compounds and the type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from a continuous culture system. **Animal Feed Science and Technology**, v. 119, n. 1, p. 29–41, 2005.

CHAIYABUTR, N.; CHANPONGSANG, S.; SUADSONG, S. Effects of evaporative cooling on the regulation of body water and milk production in crossbred Holstein cattle in a tropical environment. **International Journal of Biometeorology**, v. 52, n. 7, p. 575–585, 22 set. 2008.

CHRISTISON, G. I. .; JOHNSON, H. D. Cortisol turnover in heat-stressed cows. **Journal. of Animal Science, Champaign**, v. 35, n. 5, p. 1005–1010, 1972.

CONCEIÇÃO, M. N. **Avaliação da influência do sombreamento artificial no desenvolvimento de novilhas leiteiras em pastagens**. 2008. 137f. Tese (Doutorado) Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

CONEGLIAN, S. M. **Uso de óleos essenciais de mamona e caju em dietas de bovinos**. 2009. 101 f. Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Maringá, 2009.

CONNER, D. E. **Naturally occurring compounds**. (ed. M. D. P. M. Davidson and A. L. Branen, Ed.)Antimicrobials in Foods. **Anais...**New York, NY,: 1993

COOLIER, R. J. **Nutritional, metabolic and environmental aspects of lactation**. LARSON, B. L. (Ed.). Lactation. Iowa: State University Press,. **Anais...**1985

COSTA, A. N. L. DA. **Estresse térmico em fêmeas bovinas girolando: $\frac{3}{4}$ holandês $\frac{1}{4}$ gir vs. $\frac{1}{2}$ holandês $\frac{1}{2}$ gir, criadas em clima semiárido no estado do Ceará**. 2014. 98 f. – Universidade Federal Do Ceará e Universidade Federal Da Paraíba Universidade Federal Rural De Pernambuco, Fortaleza, 2014.

COUTINHO, D. A. et al. Intake, digestibility of nutrients, milk production and composition in dairy cows fed on diets containing cashew nut shell liquid. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 36, n. 3, p. 311, 23 jul. 2014.

CUNNIGHAN, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan: [s.n.].

DA SILVA, D. C. et al. Production Performance and Milk Composition of Dairy Cows Fed Whole or Ground Flaxseed With or Without Monensin. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 6, p. 2928–2936, 2007.

DELA RICCI, G.; ORSI, A. M.; DOMINGUES, P. F. Estresse Calórico E Suas Interferências No Ciclo De Produção De Vacas De Leite – Revisão. **Veterinária e Zootecnia**, v. 20, n. 3, p. 9–18, 2013.

DEVANT, M. et al. **Effect of a blend of castor oil and cashew nut shell liquid on performance, eating pattern, rumen health and carcass quality in Holstein bulls fed high-concentrate rations**. Journal of Animal Science, v. 90, Supplement 3,. **Anais...2012**

DONOHO, A. Biochemical studies on the fate of monensin in animal and in the environment. **Journal of Animal Science**, v. 58, p. 1528–1539, 1984.

DRACKLEY, J. K. ADSA Foundation Scholar Award. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 11, p. 2259–73, nov. 1999.

DU PREEZ, J. H. Parameters for the determination and evaluation of heat stress in dairy cattle in South Africa. **The Onderstepoort journal of veterinary research**, v. 67, n. 4, p. 263–71, dez. 2000.

DUFFIELD, T. F. et al. Effect of Prepartum Administration of Monensin in a Controlled-Release Capsule on Milk Production and Milk Components in Early Lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 2, p. 272–279, fev. 1999.

DUFFIELD, T. F.; RABIEE, A. R.; LEAN, I. J. A Meta-Analysis of the Impact of Monensin in Lactating Dairy Cattle. Part 2. Production Effects. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 4, p. 1347–1360, 2008.

DUKES, H. H. **Fisiologia dos Animais Domésticos I**. 12. ed. [s.l.] willliam O. Reece, 2006.

EIFERT, C. et al. Effects of Dietary Supplementation of Monensin and Soybean Oil on Production of Early Lactating Dairy Cows. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 2123–2132, 2005.

ELLIS, J. L. et al. Quantifying the effect of monensin dose on the rumen volatile fatty acid profile in high-grain-fed beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 8, p. 2717–2726, 1 ago. 2012.

EUROPA. **Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition**. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/TXT/?uri=CELEX:32003R1831>>. Acesso em: 12 ago. 2016.

FAÇANHA, D. A. E. et al. Methodological tendencies of adaptability evaluation to tropical environment. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 14, n. 1, p. 91–103, 2013.

FERREIRA, F. et al. Parâmetros fisiológicos de bovinos cruzados submetidos ao estresse calórico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 5, p. 732–738, 2006.

FERREIRA, F. et al. Parâmetros clínicos, hematológicos, bioquímicos e hormonais de bovinos submetidos ao estresse calórico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 4, p. 769–776, ago. 2009.

FERREIRA DE JESUS, E. et al. Effects of a blend of essential oils, chitosan or monensin on nutrient intake and digestibility of lactating dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 214, p. 12–21, 2016.

FERREIRA DE JESUS, E. et al. Effects of a blend of essential oils, chitosan or monensin on nutrient intake and digestibility of lactating dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 214, p. 12–21, 2016.

FOLDAGER, J. **Protein requirement and non-protein nitrogen for high producing cow in early lactation**. [s.l.] East Lansing - Michigan State University., 1977.

GANDRA, J. R. et al. Addition of increasing doses of ricinoleic acid from castor oil (*Ricinus communis* L.) in diets of Nellore steers in feedlots. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 21, p. 566–576, 2012.

GANDRA, J. R. et al. Productive performance of simmental dairy cows supplemented with ricinoleic acid from castor oil. **Archivos de Zootecnia**, p. 575–585, 2014.

GAUGHAN, J. B. et al. Effect of shade on body temperature and performance of feedlot steers. **Journal of Animal Science**, v. 88, n. 12, p. 4056–4067, 1 dez. 2010.

GAUGHAN, J. B. . et al. Response of domestic animals to climatic challenges. In: **Biometeorology for adaptation to climate variability and change**. Netherlands: Springer, [s.n.]. p. 131–170.

HAHN, G. L.; MADER, T. L. **Heat waves in relation of thermoregulation, feeding behavior, and mortality of feedlot cattle**. INTERNATIONAL LIVESTOCK ENVIRONMENT SYMPOSIUM, 5. **Anais...**Minnesota. St. Joseph:ASAE: 1997

HARVATINE, K. J.; BOISCLAIR, Y. R.; BAUMAN, D. E. Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. **animal**, v. 3, n. 1, p. 40–54, 15 jan. 2009.

HEAD, H. H. **The strategic use of the physiological potential of the dairy cow**. SIMPÓSIO LEITE NOS TRÓPICOS: novas estratégias de produção, 1. **Anais...**Botucatu - UNESP: 1989

HEAD, H. H. **CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOMETEOROLOGIA**. Management of dairy cattle in tropical and subtropical environments: improving production and reproduction. **Anais...**Jaboticabal: 1995

HUBER, J. T. **Alimentação de vacas de alta produção sob condições de estresse térmico**. SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA LEITEIRA. **Anais...**Piracicaba: FEALQ.: 1990

HURNIK, J. **Behaviour, farm animal and the environment**. Cambridge: ed. [s.l: s.n.].

IGONO, M. O. . et al. Physiological, productive, and economic benefits of shade, spray, and fan system versus shade for Holstein cows during summer heat. **Journal of Dairy Science**, v. 70, n. 5, p. 1069–1079, 1987.

IPHARRAGUERRE, R. .; CLARK, J. H. Usefulness of ionophores for lactating cows: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 106, p. 39*57, 2003.

JEDLICKA, M. E. .; PUREVJAV, T. .; CONOVER, A. J. **Effects of Functional Oils and Monensin Alone or in Combination on Feedlot Cattle Growth and Carcass Composition**. [s.l.] Iowa State University, 2009.

JOHNSON, H. D. et al. Short-term heat acclimation effects on hormonal profile of lactating cows. **Environmental Physiology and Shelter Engineering With Special Reference to Domestic Animals**, n. September, p. 1–15, 1988.

JOHNSON, H. D. . et al. Temperature-humidity effects including influence of acclimation in feed and water consumption of Holstein cattle. **Missouri Agricultural Experiment Station Bul**, p. 846, 1963.

KANEKO, J. J.; HARVEY, I. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animal**. 5. ed. San Diego: Academic Press: [s.n.].

KNOWLTON, K. F.; ALLEN, M. S.; ERICKSON, P. S. Lasalocid and particle size of corn grain for dairy cows in early lactation. 2. Effect on ruminal measurements and feeding behavior. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 4, p. 565–74, abr. 1996.

KOHLERT, C. et al. Bioavailability and Pharmacokinetics of Natural Volatile Terpenes in Animals and Humans. **Planta Medica**, v. 66, n. 6, p. 495–505, ago. 2000.

LAGANÁ, C. et al. Respostas comportamentais de vacas holandesas de alta produção criadas em ambientes quentes, mediante ao sistema de resfriamento adiabático evaporativo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 6, n. 2, p. 67–76, 2005.

LAMP, O. et al. Metabolic Heat Stress Adaption in Transition Cows: Differences in Macronutrient Oxidation between Late-Gestating and Early-Lactating German Holstein Dairy Cows. **PLOS ONE**, v. 10, n. 5, p. e0125264, 4 maio 2015.

LASSEN, E. D. Avaliação laboratorial do fígado. In: **In: THRALL, M.A. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Roca: [s.n.]. p. cap. 23, 343-347.

LECHAN, R. M.; FEKETE, C. Central mechanisms for thyroid hormone regulation. **The American journal of psychiatry**, v. 163, n. 9, p. 1492, set. 2006.

LOYOLA, V. R.; PAILE, B. J. A. Utilização de aditivos em rações de bovinos: Aspectos regulatórios e de segurança alimentar. In: ITTAR, C.M.M.; MOURA, J.C.; FARIA, V.P; MATTOS, W. R. S. (Ed.). . **Anais 8º SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS – MINERAIS E ADITIVOS PARA BOVINOS. B.** Piracicaba: FEALQ, 2006. p. 2.

LUNARDELLI, E. A. DOS R.-; et al. Effects of Thyroid Hormones on Memory and on Na⁺, K⁺-ATPase Activity in Rat Brain. **Current Neurovascular Research**, v. 4, n. 3, p. 184–193, 2007.

MACHADO, P. F. .; MADEIRA, H. M. F. **Manipulação de nutrientes em nível de rúmen efeitos do uso de ionóforos.** Novas tecnologias de produção animal, Sociedade Brasileira de Zootecnia. **Anais...**Campinas/SP: 1990

MACHADO GER, J. D. S. .; LOPES, L. D. .; OLIVEIRA SILVA, R. M. D. **A perspectiva do biodiesel a partir do cultivo da mamona no Brasil.** XXVII Encontro Nacional de Engenharia de Produção (ENEGEP). Fortaleza-CE ABEPRO,. **Anais...**2006

MAIA, M. DE O. et al. Consumo, digestibilidade de nutrientes e parâmetros sanguíneos de cabras mestiças moxotó suplementadas com óleos de licuri ou mamona. **Ciência Rural**, v. 40, n. 1, p. 149–155, fev. 2010.

MALAFIA, P. et al. Distúrbios comportamentais em ruminantes não associados a doenças: origem, significado e importância. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 9, p. 781–790, set. 2011.

MARSIGLIO, N. B. **ÓLEOS FUNCIONAIS EM DIETA ALTO GRÃO PARA OVINOS E EFEITOS SOBRE A DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES, DESEMPENHO, CARACTERÍSTICAS DA CARÇAÇA E DO MÚSCULO Longissimus dorsi.** 2012. 90f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2012.

MATARAZZO, S. V. **Eficiência do sistema de resfriamento adiabático evaporativo em confinamento do tipo Freestall para vacas em lactação.** 2004. 143 f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2004.

MAZUR, A. et al. Lipoprotein metabolism in fatty liver dairy cows. **Diabete & metabolisme**, v. 18, n. 1 Pt 2, p. 145–9, 1992.

MCGUFFEY, R. K.; RICHARDSON, L. F.; WILKINSON, J. I. D. Ionophores for Dairy Cattle: Current Status and Future Outlook. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. E194–E203, jun. 2001.

MCGUIRE, M. A. . et al. Effects of thermal stress and level of feed intake on portal plasma flow and net fluxes of metabolites in lactating Holstein cows. **Journal of Animal Science**, v. 67, p. 1050–1060, 1989.

MCINTOSH, F. M. et al. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. **Applied and environmental microbiology**, v. 69, n. 8, p. 5011–4, ago. 2003.

MORAIS, D. et al. Variação anual de hormônios tireoideanos e características termorreguladoras de vacas leiteiras em ambiente quente 1 Annual thyroid hormone variation and thermo regulators traits of milk cows in hot environment. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 84, p. 538–545, 2008.

NÄÄS, I. A. **Princípio de conforto térmico na produção animal**. São Paulo: Ícone: [s.n.].

NASCIMENTO, M. R. B. DE M. et al. PERFIL DOS HORMÔNIOS TIREOIDEANOS DE VACAS DAS RAÇAS GUZERÁ E HOLANDESA EM AMBIENTE TROPICAL THYROID HORMONE PROFILE OF HOLSTEIN AND GUZERAT DAIRY CATTLE IN. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 1, p. 179–184, 2013.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington: National Academies Press, 2001.

ORSKOV, E. R. **Nutrición proteica de los ruminantes**. Zaragoza, Acribia: [s.n.].

PASSINI, R. et al. Estresse térmico sobre a seleção da dieta por bovinos. **Acta Scientiarum. Animal Sciences Maringá**, v. 31, n. 3, p. 303–309, 2009.

PAYNE, J. M.; PAYNE, S. **The metabolic profile test**. Oxford university press. New York: [s.n.].

PEREIRA, J. C. C. **Fundamentos de bioclimatologia aplicados à produção animal**. Belo Horizonte: FEPMMVZ: [s.n.].

PERISSINOTTO, M. **Sistema inteligente aplicado ao acionamento do sistema de climatização em instalações para bovinos leiteiros**. Piracicaba: Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, 19 dez. 2007.

PERISSINOTTO, M. ; et al. Influência do ambiente na ingestão de água de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, n. 2, p. 289–294, 2005.

PHIPPS, R. H. et al. Effect of Monensin on Milk Production of Holstein-Friesian Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 12, p. 2789–2794, dez. 2000.

PIMENTEL, P. G. et al. Consumo, produção de leite e estresse térmico em vacas da raça Pardo-Suíça alimentadas com castanha de caju. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 6, p. 1523–1530, 2007.

PINARELLI, C. The effect of heat stress on milk yield. **Latte**, v. 28, n. 12, p. 36–38, 2003.

PINHEIRO, M. et al. HOLDING PEN ENVIRONMENT EFFECTS ON SKIN TEMPERATURE, RECTAL TEMPERATURE AND MILK PRODUCTION IN JERSEY COWS. **Revista Portuguesa de Zootecnia**, v. 12, n. 2, p. 37–43, 2005.

PLAIZIER, J. C. . et al. Effect of a prepartum administration of monensin in a controlled-release capsule on apparent digestibilities and nitrogen utilization in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 2918–2925, 2000.

PONSANO, E. H. G. et al. Variação sazonal e correlação entre propriedades do leite utilizadas na avaliação de qualidade. **Revista Higiene Alimentar**, v. 13, n. 6, p. 35–39, 1999.

PORCIONATO, M. A. DE F. et al. INFLUÊNCIA DO ESTRESSE CALÓRICO NA PRODUÇÃO E QUALIDADE DO LEITE. **Revista Academica, Ciência Agrária e Ambiental**, v. 7, n. 4, p. 483–490, 2009.

PUREVJAV, T. **Effects of functional oils and monensin on cattle finishing programs.** [s.l: s.n.].

QU, M. et al. Differences of hormones involved in adipose metabolism and lactation between high and low producing Holstein cows during heat stress. 2015.

QUEIROGA, R. DE C. R. DO E. et al. Produção e composição química do leite de cabras mestiças Moxotó sob suplementação com óleo de licuri ou de mamona. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 1, p. 204–209, jan. 2010.

RAMANZIN, M. et al. Effect of Monensin on Milk Production and Efficiency of Dairy Cows Fed Two Diets Differing in Forage to Concentrate Ratios. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 6, p. 1136–1142, jun. 1997.

RUIZ, R. et al. Effect of Monensin on the Performance and Nitrogen Utilization of Lactating Dairy Cows Consuming Fresh Forage. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 1717–1727, 2001.

RUSSI, L. D. S. et al. Etologia aplicada em bovinos. **Revista de Etologia**, v. 10, n. 1, p. 45–53, 2011.

SALLES, M. S. V. et al. Effect of monensin on performance in growing ruminants reared under different environmental temperatures. **Animal Feed Science and Technology**, v. 147, n. 4, p. 279–291, dez. 2008.

SALLES, M. S. V.; ZANETTI, M. A.; SALLES, F. A. Effect of monensin on mineral balance in growing ruminants reared under different environmental temperatures. **Animal Feed Science and Technology**, v. 141, n. 3–4, p. 233–245, abr. 2008.

SAPOLSKY, R. M.; ROMERO, L. M.; MUNCK, A. U. How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions 1. **Endocrine Reviews**, v. 21, n. 1, p. 55–89, fev. 2000.

SAVY FILHO, A. .; BANZATTO, N. V. .; BARBOZA, M. Z. **Mamoneira**. CATI (Campinas, SP). Oleaginosas no Estado de São Paulo: análise e diagnóstico. **Anais...**Campinas: 1999

SEVERINO, L. S. .; MILANI, M. .; BELTRÃO, N. E. M. **Mamona: O produtor pergunta, a Embrapa responde.**; Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica. **Anais...**Campina Grande: Embrapa Algodão: 2006

SHINKAI, T. et al. Mitigation of methane production from cattle by feeding cashew nut shell liquid. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 9, p. 5308–5316, set. 2012.

SILVA, A. P. D. S. Efeito da monensina, da virginiamicina e dos óleos funcionais de mamona e caju em bovinos Nelore submetidos a mudança abrupta para dietas com elevado teor de concentrado. p. 103, 2014.

SILVA, T. P. D. . et al. Efeito da exposição à radiação solar sobre parâmetros fisiológicos e estimativa do declínio na produção de leite de vacas mestiças (Holandês x Gir) no sul do estado do Piauí. **Comunicata Scientiae**, v. 3, n. 4, p. 299–305, 2012.

SILVA MARTELLO, L. et al. Respostas Fisiológicas e Produtivas de Vacas Holandesas em Lactação Submetidas a Diferentes Ambientes 1. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 1, p. 181–191, 2004.

SIMÕES, G. H. **Avaliação de estresse térmico em vacas de leite em free stall sob diferentes condições de climatização.** [s.l.] Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, PR, 2014.

SMITH, B. P. **Tratado de medicina veterinária interna de grandes animais.** São Paulo: Manole Ltda, 1993.

SMITH, K. L. .; TODHUNTER, D. A. .; SCHOENBERGER, P. S. Environmental mastitis: cause, prevalence, prevention. **Journal of Dairy Science**, v. 68, n. 6, p. 1531–1553, 1985.

STARLING, J. M. C. et al. Variação estacional dos hormônios tireoideanos e do cortisol em ovinos em ambiente tropical. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 2064–2073, 2005.

THOM, E. C. The discomfort index. **Weatherwise**, v. 12, n. 2, p. 57–59, 1959.

TITTO, E. A. .; AL, E. **Clima: influência na produção de leite. Ambiência na produção de leite em clima quente.** SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AMBIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE LEITE 1. **Anais...**Piracicaba: FEALQ: 1998

URIBE-VELASQUEZ, L. F. et al. Plasma concentrations of cortisol, thyroid hormone, lipids metabolites and corporal temperature of lactating Alpine goats submitted to heat stress. **Revista Brasileira De Zootecnia**, v. 27, n. 6, p. 1123–1130, 1998.

VALERO, M. V. et al. Propolis and essential oils additives in the diets improved animal performance and feed efficiency of bulls finished in feedlot. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 36, n. 4, p. 419–426, 2014.

VAN NEVEL, C. J. .; DEMEYER, D. I. .; HENDERICKX, H. K. Effect of fatty acid derivatives on rumen methane and propionate in vitro. **Applied Microbiology**, v. 21, p. 365–366, 1971.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. New York: Cornell University Press, 1994.

VILELA, R. A. **Comportamento e termorregulação de vacas holandesas lactantes frente a recursos de ventilação e nebulização em estabulação livre**. [s.l.] Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de são Paulo, 2008.

WATANABE, Y. et al. In vitro evaluation of cashew nut shell liquid as a methane-inhibiting and propionate-enhancing agent for ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 11, p. 5258–5267, nov. 2010.

WEGNER, T. N. . et al. Effect of Stress on Blood Leucocyte and Milk Somatic Cell Counts in Dairy Cows. J. **Journal of dairy science**, v. 59, p. 949–956, 1976.

ZAHNER, M. . et al. The influence of climatic conditions on physiological and behavioural parameters in dairy cows kept in open stables. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 139–147, 2004.

ZAWADZKI, F. **Glicerina, antioxidante e carotenóides sobre a qualidade e traçabilidade da carne de bovinos e ovinos**. [s.l.] Universidade Estadual de Maringá - Centro de Ciências Agrárias, 2013.