

NATHÁLIA TREVISAN SCOGNAMIGLIO GRIGOLETTO

Aditivos na dieta de vacas em lactação sob estresse térmico

Pirassununga

2020

NATHÁLIA TREVISAN SCOGNAMIGLIO GRIGOLETTO

Aditivos na dieta de vacas em lactação sob estresse térmico

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de Concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Francisco Palma Rennó

De acordo: 

Orientador

Pirassununga
2020

Obs: A versão original encontra-se disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínia Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3974 FMVZ	Grigoletto, Nathalia Trevisan Scognamiglio Aditivos na dieta de vacas em lactação sob estresse térmico / Nathalia Trevisan Scognamiglio Grigoletto. – 2020. 61 f. : il. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2020. Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal. Área de concentração: Nutrição e Produção Animal. Orientador: Prof. Dr. Francisco Palma Ramô. 1. Estresse térmico. 2. Monensina sódica. 3. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . I. Título.
-----------------	--

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Maris Aparecida Laet, CRB 5673-8, da FMVZ/USP.

**CERTIFICADO**

Certificamos que a proposta intitulada "ADITIVOS NA DIETA DE VACAS EM LACTAÇÃO SOB ESTRESSE TÉRMICO", protocolada sob o CEUA nº 8750141218 (ID 006404), sob a responsabilidade de **Francisco Palma Rennó e equipe; Nathália Trevisan Scognamiglio Grigoletto** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 17/04/2019.

We certify that the proposal "Feed additives in lactating dairy cows under heat stress", utilizing 48 Bovines (48 females), protocol number CEUA 8750141218 (ID 006404), under the responsibility of **Francisco Palma Rennó and team; Nathália Trevisan Scognamiglio Grigoletto** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 04/17/2019.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **03/2019** a **06/2019** Área: **Nutrição E Produção Animal**

Origem: **Animais provenientes de outros projetos**

Espécie: **Bovinos**

sexo: **Fêmeas**

idade: **3 a 7 anos**

N: **48**

Linhagem: **Raça Holandesa**

Peso: **500 a 800 kg**

Local do experimento: O experimento será conduzido no Laboratório de Pesquisa em Bovinos de Leite, do Departamento de Nutrição e Produção Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga/SP.

São Paulo, 01 de junho de 2020

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Camilla Mota Mendes

Vice-Coordenador

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: GRIGOLETTO, Nathália Trevisan Scognamiglio

Título: **Aditivos na dieta de vacas em lactação sob estresse térmico**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ___/___/_____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Agnaldo e Maria Luisa, e ao meu marido Wellington, sem o apoio de vocês não seria possível realizar este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por ter me abençoado com cada etapa deste trabalho, pela determinação, coragem e sabedoria por chegar até este momento.

Aos meu pais pelo apoio incondicional, por todo seu amor e compreensão. A todos os familiares que acompanharam e torceram pelo meu sucesso.

Ao meu marido que foi meu companheiro de várias empreitadas nesta vida e me apoiou em toda etapa da realização deste sonho.

Ao professor Dr. Francisco Palma Rennó por toda sua confiança em meu trabalho, por todo apoio a orientação. Por ter concedido a oportunidade de uma bióloga fazer parte da nutrição de vacas leiteiras. Tenho certeza que o senhor acreditou mais em mim do que eu mesma, que desde o primeiro contato que tivemos, ainda conversando sobre uma oportunidade de ser técnica em seu laboratório, ali naquele momento o senhor já me motivou e incentivou para pós graduação.

À Universidade de São Paulo, à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia e ao Departamento de Nutrição e Produção Animal por possibilitaram o desenvolvimento desse trabalho. Ao Laboratório de Pesquisa em Bovinos de Leite por todos momentos vividos, estendo meus agradecimentos aos funcionários Diogo, Lucas, Dênis, Schmidt, Alemão, Wilson, Marco, pois sem vocês este trabalho não se realizaria. Extendo também meus agradecimentos às funcionárias da limpeza Dona Dalva que esteve comigo desde quando comecei trabalhar no LPBL, a Rosa e a dona Meire.

Estendo também meus agradecimentos as vacas leiteiras que surpreendentemente se tornaram uma paixão para toda minha vida e foram imprescindíveis para realização deste trabalho.

À empresa Alltech® pela concessão do aditivo e todo apoio para o desenvolvimento deste trabalho. Ao Luiz, Daniel, Winston, Anne e James pela confiança e contribuição para realização deste trabalho; pela oportunidade de participar do encontro das Alianças, por esta experiência incrível e por todo aprendizado.

Aos colegas de pós-graduação: Alanne Tennório, Guilherme Gomes, Júlia Marques, Larissa Gheller, Lucas Ghizzi, Mauro Sérgio, Paulo Vittorazi, Tássia Barrera, Tiago del Valle, Rodrigo Chesini; aos IC's: Lucas Sakamoto e Luis Guilherme; a todos estagiários que passaram pelo laboratório, por toda a ajuda e aprendizado. Sem dúvida alguma, sem ajuda de vocês nada disso seria possível. Aos recém-chegados Althieres e Milena, desejo que seja tão intenso quanto fui.

A todos os professores que ao longo do Mestrado tive a felicidade de conhecer, todos

sempre muito solícitos e atenciosos em partilhar seus conhecimentos; aos funcionários do Departamento de Nutrição e Produção Animal sempre dispostos a nos ajudar.

À Larisssa e Gustavo Freu por toda amizade, apoio, tardes e noites de estudo, e todos momentos de descontração. Sou muito grata por tê-los como amigos.

Aos amigos de longa data, Lu, Diego, Juliana, Agnaldo e a pequena Heloisa, por sempre estarem ao meu lado me apoiando, compreenderem os momentos de ausências, pela amizade linda que temos e por sermos uma família que compartilha momentos incríveis.

A todos que torceram por mim e de alguma forma me ajudaram,

Meu muito obrigada!

“A vida é muito curta para ser pequena”

Benjamin Disraeli

RESUMO

GRIGOLETTO, N. T. S. **Aditivos na dieta de vacas em lactação sob estresse térmico**. 2020. 61p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2020.

Objetivou-se avaliar os efeitos da adição da combinação de aditivos na alimentação de vacas em lactação sob estresse térmico sobre o consumo e digestibilidade aparente total de matéria seca e nutrientes, produção e composição do leite, parâmetros sanguíneos e respostas fisiológicas. Quarenta vacas da raça Holandesa foram distribuídas em delineamento em blocos ao acaso em arranjo fatorial 2 x 2, nos seguintes tratamentos: 1) Controle (CON), composto por dieta basal sem inclusão de aditivos; 2) Monensina (MON), dieta basal com a inclusão de monensina sódica, na dose de 20 mg/kg de MS da dieta; 3) Milk Sacc+® (MSC), dieta basal com a inclusão de Milk Sacc+®, na dose de 40 g/vaca/dia; e 4) dieta basal com a associação de MON + MSC (MMS). A temperatura média do galpão experimental, umidade relativa e o índice de temperatura e umidade durante o experimento foram de $25 \pm 2,7$ °C, $69,0 \pm 8,57\%$ e $73 \pm 2,84$ (média \pm DP), respectivamente. O experimento teve 11 semanas de duração, sendo 2 semanas período de covariável. Os dados foram analisados usando o proc MIXED do SAS 9.4. A adição de MSC aumentou a produção de leite, produção de leite corrigido para gordura, produção de gordura, proteína e lactose no leite, ao passo que MON aumentou teor de NUL. Além disso, MSC aumentou o consumo de matéria seca expresso em porcentagem de peso corporal. A dieta MSC aumentou o consumo de partículas entre 8 e 19 mm, conteúdo de partículas fibrosas, e diminuiu consumo de partículas menores que 4 mm quando comparado ao controle. A dieta MSC diminuiu o tempo de ruminação e a mastigação (min/kg de FDN). No entanto, o uso dos aditivos não demonstrou efeitos sobre os parâmetros fisiológicos nas vacas. De maneira geral, MON não diferiu do CON. A dieta MSC é opção útil e viável ao uso de Monensina durante períodos de estresse térmico aos animais devido à sua capacidade de aumentar a produção e a composição do leite.

Palavras-chave: Estresse térmico. Monensina sódica. *Saccharomyces cerevisiae*.

ABSTRACT

GRIGOLETTO, N. T. S. **Feed additives in lactating dairy cows under heat stress.** 2020. 61p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2020.

The objective was to evaluate the effects of additives by way of lactating cows' diet under heat stress condition on intake of dry matter and total-tract apparent digestibility and nutrients, milk production and composition, blood parameters and physiological responses. Forty Holstein cows were distributed in a randomized block design in 2 x 2 factorial arrangement, in the following treatments: 1) Control (CON), consisting of a basal diet without inclusion of additives; 2) Monensin (MON), basal diet with inclusion of sodium monensin at dose of 20 mg/kg DM of the diet; 3) Milk Sacc+[®] (MSC), basal diet with inclusion of Milk Sacc+[®] at dose of 40 g / cow / day; and 4) Inclusion of the MON + MSC (MMS) associated. The average temperature, the relative humidity and the temperature and humidity index from experimental house during the experiment period were 25 ± 2.7 °C, $69.0 \pm 8.57\%$ and 73 ± 2.84 (mean \pm SD), respectively. The experiment lasted 11 weeks, with 2 weeks of covariable. Data were analyzed using the PROC MIXED of SAS 9.4. The addition of MSC increased milk yield, fat-corrected milk yield, milk fat, protein, and lactose yields whereas MON increased milk urea nitrogen. In addition, MSC increased dry matter intake expressed as a percentage of body weight. Diet MSC increased intake of particles between 8 and 19 mm, more particular fibers and decreased the intake of particles smaller than 4 mm when compared to the control. Milk Sacc+[®] decreased rumination time (min/d) and chewing (min/kg NDF). However, the use of additives had no effect on physiological parameters. Monensin did not differ from CON. Diet MSC is a useful and viable option for using MON during the heat stress period due to its ability to increase milk yield and composition.

Keywords: Heat stress. Sodium monensin. *Saccharomyces cerevisiae*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Ingredientes e composição química da dieta experimental.....	29
Tabela 2. Composição química dos ingredientes utilizados na dieta experimental.....	30
Tabela 3. Consumo de matéria seca e nutrientes e digestibilidade aparente total de vacas leiteiras alimentadas com aditivos sob estresse térmico.....	39
Tabela 4. Produção, composição do leite e eficiência produtiva de vacas leiteiras alimentadas com aditivos sob estresse térmico.....	40
Tabela 5. Parâmetros sanguíneos e síntese de proteína microbiana de vacas leiteiras alimentadas com aditivos sob estresse térmico.....	41
Tabela 6. Balanço de nitrogênio de vacas leiteiras alimentadas com aditivos sob estresse térmico.....	42
Tabela 7. Índice de seleção e comportamento alimentar as vacas leiteiras alimentadas com aditivos sob estresse térmico	43
Tabela 8. Efeitos do uso de aditivos sob estresse térmico nas frequências cardíaca e respiratória, temperatura retal, temperatura da superfície da face, fronte e rúmen.....	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Índice de temperatura e umidade, temperatura e umidade relativa do ar durante o período experimental.....	44
--	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	HIPÓTESE	17
3	OBJETIVO	17
4	REVISÃO DE LITERATURA	18
4.1	ADITIVOS	18
4.1.1	Monensina	19
4.1.2	Leveduras na nutrição animal.....	21
4.1.3	Outros potenciais usos de leveduras na nutrição animal	23
4.2	ESTRESSE TÉRMICO EM VACAS LEITEIRAS	25
5	MATERIAL E MÉTODOS	28
5.1	LOCAL, INSTALAÇÕES E ANIMAIS	28
5.2	ANIMAIS E DIETAS EXPERIMENTAIS	28
5.3	CONSUMO DA MATÉRIA SECA E ANÁLISE DE ALIMENTOS	31
5.4	PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE.....	32
5.5	DIGESTIBILIDADE APARENTE TOTAL	32
5.6	SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA E BALANÇO DE NITROGÊNIO.....	33
5.7	AVALIAÇÃO DO PESO E SCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL.....	34
5.8	ÍNDICE DE SELEÇÃO DE PARTÍCULAS.....	35
5.9	COMPORTAMENTO INGESTIVO.....	35
5.10	PARÂMETROS SANGUÍNEOS	36
5.11	ESTRESSE TÉRMICO E AVALIAÇÃO DO AMBIENTE E DOS ANIMAIS.....	36
5.12	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	37
6	RESULTADOS	38
6.1	CONSUMO DE MATÉRIA SECA E DIGESTIBILIDADE APARENTE TOTAL 38	
6.2	PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE.....	39
6.3	PARÂMETROS SANGUÍNEOS E SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA 40	
6.4	BALANÇO DE NITROGÊNIO	41

6.5	ÍNDICE DE SELEÇÃO DE PARTÍCULAS E COMPORTAMENTO ALIMENTAR	
	42	
6.6	PARÂMETROS TÉRMICOS DAS VACAS E DO AMBIENTE.....	43
7	DISCUSSÃO	45
8	CONCLUSÃO	50
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

1 INTRODUÇÃO

Uma das grandes preocupações dos produtores de leite é o estresse térmico das vacas, pois este fator ambiental afeta negativamente a produção e a reprodução de bovinos leiteiros (BEEDE e COLLIER, 1986). O clima é fator limitante para vacas leiteiras pois ao exceder a zona de conforto térmico podem ter alterações da homeostase (ZIMBELMAN et al., 2009). O estresse térmico pode ser causado pela alta temperatura do ar e alta umidade, pouca movimentação do ar e o calor metabólico gerado pelos processos fisiológicos (JEELANI et al., 2019). Dessa forma, a vaca leiteira entra em estresse térmico e ocorre queda na eficiência e no desempenho produtivo (COLLIER e BEEDE, 1985; WEST, 2003; WHEELLOCK et al., 2010), por consequência principal da redução no consumo de matéria seca, relatada por Wheelock et al. (2010) e Baumgard et al. (2011). No entanto, um balanceamento adequado na dieta de vacas em lactação pode melhorar a eficiência produtiva desses animais, principalmente quanto associado a aditivos alimentares durante períodos de estresse térmico (SALVATI et al., 2015).

No mercado, há disponível uma grande variedade de aditivos, dentre eles estão os ionóforos, leveduras, tampões, e culturas microbianas. Pesquisas avaliando diferentes aditivos na dieta de vacas leiteiras têm contribuído para conhecer os potenciais efeitos sobre o desempenho produtivo. A monensina sódica destaca-se entre os aditivos antimicrobianos utilizados na nutrição de bovinos leiteiros. Esse aditivo é reconhecido pelo seu efeito na eficiência alimentar devido a modulação da fermentação ruminal, levando geralmente ao aumento do propionato ruminal, que é precursor da gliconeogênese, e efeito sobre a conversão de energia na produção de leite em vacas de diferentes fases da lactação (OWENS et al., 1991; SCHELLING, 1984; NRC, 2001).

Apesar dessa melhora no desempenho animal pelo uso de monensina há uma preocupação mundial sobre seu uso na alimentação animal por ser um antimicrobiano. Assim, as leveduras são citadas como escolha à monensina na nutrição animal (BERTO, 1985). A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é a espécie mais utilizada em pesquisas; este microrganismo é um fungo unicelular encontrado em diversas formas, tais como: cepas ativas (vivas) e/ou inativas (mortas), produtos de fermentação e carboidratos extraídos de sua membrana celular (OLIVEIRA, 2012). Ao serem utilizadas na nutrição animal, cada forma pode apresentar um tipo de resposta produtiva e de desempenho em vacas leiteiras (CHAUCHEYRAS-DURAND, WALKER and BACH, 2008).

O uso de aditivos a base de *S. cerevisiae* na alimentação de ruminantes é tipicamente descrito por melhorar o desempenho produtivo, apresentando melhora na digestão dos nutrientes, aumento do consumo de matéria seca, melhora na utilização de nitrogênio, reduz a oscilação do pH ruminal, e aumenta a produção de leite (CHAUCHEYRAS-DURAND, WALKER e BACH, 2008; DESNOYERS et al., 2009; PERDOMO et al., 2020), além de relatos de modificar padrões de comportamento em vacas leiteiras (DEVRIES e CHEVAUX, 2014; PERDOMO et al., 2020).

Minerais orgânicos têm sido estudados na produção e desempenho de vacas em lactação nos últimos anos, uma vez que são importantes em funções vitais como o metabolismo, estrutura de hormônios, funções reprodutivas e de enzimas e a integridade do sistema imunológico (DEL VALLE et al., 2015). O aumento das necessidades energéticas e do metabolismo em vacas estressadas pelo calor pode levar a maior exigência por minerais (KADZERE et al., 2002) fato que geralmente não são levados em consideração nas formulações de dietas. Dessa forma, incluir aditivo que contém mineral orgânico em sua composição pode permitir melhor desempenho produtivo das vacas, funcionamento do sistema imune e taxas reprodutivas.

Aditivos nutricionais inovadores devem ser avaliados, de forma que o produto Milk Sacc+[®] é um aditivo formulado com leveduras vivas (*S. cerevisiae* cepa 1026), glucanos, mananas e minerais orgânicos que está sendo avaliado pela primeira vez com este trabalho. Assim, o uso deste aditivo associado a manejo nutricional adequado e a preocupação em amenizar os efeitos causados pelo estresse térmico de vacas em lactação pode resultar em melhor desempenho produtivo e metabolismo desses animais.

2 HIPÓTESE

A hipótese avaliada neste trabalho é de que a inclusão do aditivo composto por leveduras e minerais orgânicos (Milk Sacc+[®], Alltech[®], Nicholasville, Kentucky, USA) associado ou não à monensina sódica possa apresentar efeitos positivos sobre o desempenho produtivo, digestão e metabolismo de vacas leiteiras em período de estresse térmico.

3 OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a adição do aditivo composto por leveduras e minerais orgânicos (Milk Sacc+[®], Alltech[®], Nicholasville, Kentucky, USA) e de monensina

sódica (Rumensin[®], Elanco, São Paulo, Brasil) na alimentação de vacas leiteiras em condição de estresse térmico, e seus efeitos sobre o consumo e digestibilidade aparente total de matéria seca e nutrientes, produção e composição do leite, síntese de proteína microbiana, concentrações de parâmetros sanguíneos, balanço de nitrogênio, índice de seleção de partículas, comportamento alimentar e as respostas fisiológicas.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 ADITIVOS

A Instrução Normativa 13/04 (alterada pela Instrução Normativa n° 44/15), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), órgão governamental que aprova o regulamento técnico sobre aditivos para produtos destinados à alimentação animal, apresenta quais são os devidos procedimentos a serem adotados na avaliação, registro, comercialização e uso dos aditivos na alimentação animal, a fim de garantir um nível adequado de proteção da saúde humana, dos animais e do meio ambiente.

Os produtos compostos por aditivos que são destinados à alimentação animal são definidos nesta normativa como:

“substância, micro-organismo ou produto formulado, adicionado intencionalmente aos produtos, que não é utilizado normalmente como ingrediente, tenha ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados à alimentação animal dos produtos animais, melhore o desempenho dos animais sadios ou atenda às necessidades nutricionais” (MAPA, 2015).

A normativa ainda classifica os aditivos conforme suas funções e propriedades nas seguintes categorias: os tecnológicos que são aquelas substâncias adicionadas ao produto destinado à alimentação animal com fins tecnológicos; sensoriais que ajudam na melhora ou modificam as propriedades organolépticas ou as características visuais dos produtos; aditivos nutricionais são todas substâncias utilizadas para manter ou melhorar as propriedades nutricionais do produto; aditivos zootécnicos que influem positivamente na melhoria do desempenho dos animais; e aditivos anticoccidianos que eliminam ou inibem protozoários (MAPA, 2004). Os aditivos zootécnicos modulam a fermentação ruminal, o que facilita a digestão dos alimentos ingeridos e como resultado melhor desempenho animal (MORRIS et al., 1990; OWENS et al., 1991; MAPA, 2020).

De forma similar, aditivo foi definido por Hutjens et al. (1991) como sendo ingrediente que produz resposta animal desejável em um papel não nutriente. MCGUFFEY (2017) também descreve aditivo como tendo finalidade de incrementar a produção animal, e são utilizadas como ferramentas na dieta de vacas em lactação. Tais aditivos geralmente são apresentados como um pacote de pré-mistura ou mineral com baixa taxa de inclusão adicionados na TMR ou na mistura do concentrado. Uma grande variedade de aditivos está disponível atualmente, dentre eles estão antimicrobianos, ionóforos, leveduras, tampões, e culturas microbianas.

4.1.1 Monensina

A utilização de ionóforos na produção animal teve início na década de 70. Primeiramente, em 1971, a monensina foi aprovada e utilizada com objetivo de controlar a coccidiose na produção de aves (RUSSEL; STROBEL, 1989). Já em 1975, sua utilização foi aprovada para bovinos em confinamento como promotor de crescimento (McGUFFEY et al., 2001).

A monensina é o ionóforo mais utilizado na alimentação animal. Trata-se de antimicrobiano utilizado com objetivo de aumentar o desempenho de bovinos de leite devido ao seu efeito sobre os microrganismos ruminais otimizando a fermentação ruminal, aumentando a produção de ácido propiônico, reduzindo a relação acetato/propionato (McGUFFEY et al., 2001). O mecanismo de ação deste ionóforos, produzido naturalmente por bactérias do gênero *Streptomyces cinnamomensis*, são características lipofílicas e toxicidade a muitos microrganismos (HANEY & HOEHN, 1967).

No rúmen a monensina exerce pouca ou nenhuma atividade contra as bactérias Gram-negativas, mas são altamente efetivos contra bactérias Gram-positivas, fato se deve pela presença de camada lipídica externa nas bactérias Gram-negativas que contém porinas (canais de proteínas) com tamanho de 600 Dalton. Esses canais de proteínas selecionam a entrada de moléculas para o interior da célula e impedem que os ionóforos ultrapassem essa barreira física (NAGAJARA et al., 1997). Por outro lado, as bactérias Gram-positivas não possuem essa camada externa, o que possibilita a entrada dos ionóforos através da membrana celular.

O modo de ação dos ionóforos se dá pela especificidade por cátions e pela capacidade de atingir determinadas concentrações no rúmen (PRESSMAN, 1976). Dessa forma, cada ionóforo é capaz de se ligar a um cátion apropriado e formar a ligação (ionóforo-cátion) que se liga a bactéria solubilizando a membrana celular. Assim que a membrana celular é solubilizada, o complexo cátion é trocado por um próton, levando à diferentes gradientes catiônicos e as

relações de afinidade entre ionóforos e cátions, o que resulta em mudanças iônicas primárias e secundárias. A primeira reação que ocorre quando a monensina se liga a membrana celular é a entrada de Na^+ e saída de K^+ por diferença no gradiente de concentração; na segunda reação, ocorre translocação de Na^+ para dentro e H^+ para fora da célula; resultando em aumento a pressão osmótica promovendo a entrada de água “inchando” a célula, fazendo-a romper (RUSSEL, 1987; NEWBOLD et al., 2013).

Estudo conduzido com vacas em terço médio de lactação suplementadas com 24 mg/kg matéria seca (MS) de monensina, alimentadas com silagem de milho na proporção volumoso:concentrado de 35:65, observou redução de 19% na relação acetato:propionato e na produção de metano (SAUER et al., 1998). Ao avaliarem o fornecimento de monensina em doses crescentes em dietas de vacas leiteiras em terço médio de lactação, Gandra et al. (2010) observaram redução linear na ingestão de MS, e aumento na eficiência produtiva ao utilizar a dose de 24mg/kg de MS na dieta.

Vacas em lactação que receberam monensina em sua dieta podem apresentar mudanças significativas no perfil metabólico sanguíneo, principalmente no que se refere ao aporte do metabolismo energético da glicose, ácidos graxos não-esterificados e β -hidroxibutirato; podendo também, promover alteração da concentração de nitrogênio ureico no sangue (DUFFIELD et al. 2008). A meta-análise realizada por Duffield et al. (2008) buscou estudar os efeitos metabólicos promovidos pela ação da monensina em vacas leiteiras, e puderam constatar que, no levantamento realizado por eles, este ionóforo aumentou em aproximadamente 3,0% os níveis de glicose e em 6,0% os níveis de uréia no sangue, mas não foi possível observar efeito para as concentrações de colesterol total. Grandes quantidades de glicose são necessárias para atender os requerimentos da glândula mamária para produção de leite, síntese de lactose, proteína e gordura no leite (REYNOLDS et al., 1994). Uma maior disponibilidade de glicose pode resultar a partir do propionato ruminal, o que contribuiu com o aumento na produção de leite (HAYES et al., 1996).

Em ruminantes o processo de fermentação ruminal se dá pela ação de bactérias ruminais, as quais convertem componentes da dieta em ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), proteína microbiana, amônia, metano, entre outros (OWENS; GOETSCH, 1993); a monensina tem efeitos sobre os AGCC alterando sua produção no rúmen, relatado por alguns autores pelo aumento das concentrações de propionato e diminuição de acetato e butirato (DUFFIELD, RABIEE e LEAN, 2008; VENDRAMINI et al., 2016). Entretanto, compostos como metano e calor não são utilizados pelos ruminantes, sendo estes classificados como drenos de energia (CALLAWAY et al., 2003), a monensina também é descrita pela ação ruminal por proporcionar

redução na emissão de metano, diminuindo assim a perda de energia por esse processo (BERGEN e BATES, 1984; BAGG, 1997).

A monensina possui restrições quanto ao seu uso, principalmente na União Européia, devido às preocupações dos consumidores por questões de segurança dos alimentos e proibição do uso de antimicrobianos. Assim, o interesse por aditivos não antimicrobianos com potencial semelhante ao da monensina vem crescendo. Neste novo mercado, aditivos a base de leveduras (e.g, *Saccharomyces cerevisiae*) adicionados a dieta de vacas leiteiras podem ser uma interessante alternativa capaz de promover índices produtivos satisfatórios.

4.1.2 Leveduras na nutrição animal

Leveduras são fungos unicelulares utilizados desde a antiguidade na alimentação humana. O gênero *Saccharomyce*, vem sendo amplamente utilizado na indústria, em destilarias de álcool e cervejarias, sendo a espécie *Saccharomyces cerevisiae* responsável pelo processo fermentativo nessas indústrias (BERTO, 1985).

O destino dado as leveduras originadas nos processos industriais de fermentação de álcool e cerveja tem extrema importância no que se refere a preservação ambiental; pois, em ambientes aquáticos as leveduras são altamente poluentes e sua utilização na alimentação animal pode ser uma forma econômica, viável e ecológica para escoar este subproduto (OLIVEIRA, 2012). Porém, essa inclusão deve acontecer com cautela já que a composição das leveduras é bastante variável, e depende de fatores como a espécie da levedura, natureza do subproduto, aeração do meio, destino do meio de cultura, concentração dos sais e tampões utilizados no processo de fermentação (BAPTISTA, 2001).

Levando em consideração o processamento, a levedura seca faz parte da diversidade dos subprodutos, apresentando parede celular íntegra e bastante rica em aminoácidos, carboidratos e proteína (ZANUTTO, 1997). A obtenção da levedura seca, originalmente úmida obtida do leite de levedura pode ser através de rolos rotativos em contato direto com a superfície e temperatura de até 200°C; ou por método *spray dry*, onde o leite de leveduras em uma câmara passa por atomizador, que girando em alta rotação faz com que as pequenas gotículas geradas fiquem expostas à fluxo de ar quente e sequem de forma instantânea (PARRA, 2009). Esta tecnologia proporciona produto de melhor qualidade, visto que apresenta uniformidade em sua cor, granulometria, umidade e principalmente preservação dos aminoácidos, já que o processo

utiliza menor temperatura e menor período de exposição à temperatura durante o processamento (FURCO, 1997; MOREIRA et al., 2002).

Em contrapartida, a levedura hidrolisada tem o citoplasma completamente exposto através de hidrólise da parede celular de *S. cerevisiae* realizada por enzimas endógenas ou exógenas. Esse processo de hidrólise permite a disponibilidade de grande quantidade de nucleotídeos, polipeptídios e vitaminas do complexo B (SILVA, 2009).

Os primeiros relatos de utilização de leveduras na nutrição animal foram em monogástricos, especialmente em suínos, primeiramente utilizada como fonte proteica. Já em ruminantes as leveduras foram utilizadas na dieta de bovinos leiteiros com resultados expressivos no aumento de ganho de peso e produção de leite (BEESON & PERRY, 1953). Entretanto, outros estudos relataram resultados discrepantes em que a adição de leveduras não influenciou positivamente a produção de leite em vacas (LASSITER et al., 1958; WALLACE e NEWBOLD, 1992; WALLACE, 1994).

Arambel e Tung (1987) demonstraram em condições experimentais *in vitro* que a temperatura e a composição química do líquido ruminal tende a inibir o crescimento de leveduras. O pH favorável para o crescimento de levedura é próximo a 4,5; no entanto, devido ao fato do pH ruminal possuir valor superior, as leveduras apresentam baixa taxa de crescimento. Newbold et al. (1990) em estudo desenvolvido com ovelhas com objetivo de estudar a população ruminal após a inclusão de levedura na dieta; relatou aumento de $1,5 \times 10^3$ para $3,3 \times 10^5$ após uma hora dos animais receberem alimentação composta por cultura de leveduras, porém este crescimento não persistiu o que indica a necessidade de fornecimento contínuo, já q *S. cerevisiae* não se multiplica de forma expressiva no rúmen.

De maneira geral, a suplementação com leveduras aumenta a quantidade de bactérias anaeróbicas no líquido ruminal. Há aumento no número de bactérias celulolíticas e as bactérias que utilizam ácido lático são estimuladas pelos ácidos dicarboxílicos presentes. Tal fato pode explicar a melhora na degradação de fibra e aumento da estabilidade ruminal em animais que recebem a suplementação com leveduras (HARRISON et al., 1988; WILLIAMS et al., 1991).

Estudo desenvolvido por Huber et al. (1994) mostrou que a suplementação de leveduras em vacas leiteiras expostas a altas temperaturas reduziu sinais de estresse térmico, bem como temperatura retal e frequência respiratória, além disso, melhorou desempenho na lactação. Adicionalmente, em estudo desenvolvido por Schingoethe et al. (2004) que teve como objetivo avaliar vacas leiteiras expostas ao estresse térmico e suplementadas com 60 g/d de cultura de *S. cerevisiae*, observou maiores rendimentos nos componentes do leite, embora as concentrações de gordura do leite apresentaram redução. Além disso, suplementação de *S.*

cerevisiae não teve efeitos significativos na temperatura retal, e não influenciou o escore de condição corporal e as concentrações de metabólitos no plasma. Diante disso os autores puderam concluir que o uso de *S. cerevisiae* melhorou o desempenho da lactação de vacas leiteiras expostas ao estresse térmico, aumentando a produção de leite e de sólidos não gordurosos.

Dessa forma, embora seja de extrema importância padronizar doses e linhagens ofertadas, sugere-se que a adição destes microrganismos como forma suplementar à dieta de bovinos pode ser alternativa à utilização de ionóforos.

4.1.3 Outros potenciais usos de leveduras na nutrição animal

Glucanos e mananas são polissacarídeos componentes da parede celular de leveduras, que podem atuar como imunoestimulantes nos animais (ENGSTAD e ROBERTSEN, 1993). A parede celular de leveduras é composta por 30% de manana, 30% de glucana e 12,5% de proteínas. A atuação imunológica destes compostos foi estudada por Guo et al. (2003), os quais descreveram ação benéfica das mananas e glucanos sobre macrófagos e no número de células circulantes.

De forma adicional, a *Saccharomyces cerevisiae* possui componentes da parede celular, como os betas glucanas (β -glu), que possuem capacidade de adsorver micotoxinas. Estes polissacarídeos possuem ligações β 1-3 e 1-6 e sua estrutura tridimensional em forma de hélice, contribuem para que consigam adsorver micotoxinas de forma eficiente (MAGNANI e CASTRO-GÓMEZ, 2008). A presença das ligações β 1-3 conferem elasticidade a parede celular das leveduras em condições normais osmóticas. Isso ocorre devido a característica dessas ligações de hidrogênio que representam uma rede tridimensional e contínua. Quando em meios hipertônicos a parede celular tende a encolher podendo perder até 60% de seu volume original (KLIS et al., 2006). Em contrapartida, as ligações β 1-6 servem de apoio para a estrutura e integridade da membrana plasmática (ROEMER et al., 1994).

Condições aplicadas na produção de cerveja durante a fermentação, como variação na disponibilidade de nutrientes, no pH, temperatura, disponibilidade de hidrogênio e na composição do meio de cultivo podem influenciar a composição da parede celular das leveduras (ROSSI et al., 2003).

As β -glu da parede celular das leveduras fazem parte de classe conhecida como modificadores de resposta biológica, e tem a capacidade de alterar no hospedeiro a resposta

biológica pelo estímulo do sistema imune. Esse tipo de atividade acontece devido ao tipo de ligações glicosídicas, peso molecular, conformidade, grau de polimerização e de ramificação do polímero (DIETRICH-MUSZALSKA et al., 2011). Dentre os derivados solúveis da β -glu sabe-se que a forma carboximetilada tem efeito modulador da resposta imune inata e adaptativa (BABINCOVÁ et al., 2002).

As micotoxinas são metabólitos secundários de baixo peso molecular produzidos por micélios ou esporos de fungos filamentosos. As aflatoxinas são um grupo de micotoxinas que podem contaminar naturalmente os alimentos, como milho, trigo, sorgo, arroz e oleaginosas como girassol, amendoim, coco, algodão (BAHT et al., 2010); tendo a umidade e a temperatura como fatores que influenciam de maneira significativa para o crescimento desses fungos, além de outros fatores ambientais como vento e insetos serem vetores para transferência entre plantas (FAO, 2007).

As micotoxinas podem suprimir ou estimular o sistema imunológico (Sharma, 1993). Supressão enfraquece o sistema imunológico na resposta a estímulos, enquanto a estimulação produz reações alérgicas hipersensíveis. Estudos tem demonstrado que uso combinado de adsorventes de origem da parede celular de *S. cerevisiae* na dieta de vacas leiteiras podem reduzir aflatoxinas do leite (possivelmente transferidas via dieta) e evitar a redução na produção de leite causada pela toxina (DIAZ et al., 2004; OGUNADE et al., 2016), podendo até haver tendência em aumentar a produção de leite (JIANG et al., 2018).

Os aglutinantes de micotoxinas são adicionados na alimentação das vacas a fim de reduzir o risco de transferência das micotoxinas para o leite. Esse cuidado se deve pelo fato desses compostos serem tóxicos e cancerígenos ao consumo humano, e isso fez com que o FDA (Food and Drug Administration) estabelecesse um limite de 0,5 $\mu\text{g} / \text{L}$ no leite (McGUFFEY, 2017).

Um estudo desenvolvido por Gonçalves et al. (2017) testou mix comercial composto por parede celular de levedura, levedura viva e seca (*S. cerevisiae*) que foram administradas na alimentação das vacas de forma isolada ou em conjunto com aflatoxinas. O resultado demonstrou que sua inclusão não afeta a produção de leite ou a concentração de gordura ou proteína do leite, embora os tratamentos que receberam algum tipo de levedura foram capazes de reduzir a concentração da aflatoxina excretada no leite, sendo os subprodutos de células de levedura e levedura viva apresentaram maior eficiência, removendo 78 e 89%, respectivamente, de aflatoxina no leite. Os resultados encontrados nesse experimento indicam potencial aplicação desses subprodutos, na redução da excreção de aflatoxina no leite.

4.2 ESTRESSE TÉRMICO EM VACAS LEITEIRAS

O estresse térmico é um importante fator que impacta negativamente e economicamente a eficiência dos rebanhos, tanto a produção, reprodução e saúde de vacas leiteiras. Pode ocorrer em quaisquer condições em que a combinação dos fatores temperatura e umidade relativa do ar fazem com que a vaca gaste energia para manter o organismo fisiologicamente ativo (ARMSTRONG, 1994).

Para diminuir o impacto do estresse térmico sobre a produtividade dos rebanhos, sistemas de resfriamento, estratégias nutricionais específicas (WEST, 2003) e práticas de manejo para identificar com maior precisão as vacas sob estresse térmico têm sido implementadas.

O impacto na produção e reprodução causado pelo estresse térmico pode ser explicado por mecanismos biológicos, como a queda na ingestão alimentar, alterações no estado endócrino, diminuição da ruminação, e aumento nas exigências para manutenção (COLLIER & BEEDE, 1985). Esses fatores contribuem para redução na disponibilidade e absorção dos nutrientes e energia destinados à produção e reprodução.

O ITU (índice de temperatura e umidade) tem sido extensivamente utilizado para estimar o quanto as vacas leiteiras são expostas ao estresse térmico em condições quentes, a fim de melhorar as estratégias de resfriamento (ZIMBELMAN et al., 2009; JEELANI et al., 2019). O ITU foi estudado inicialmente em vacas em lactação por Berry et al. (1964), nesse período de desenvolvimento do termo foram estudadas vacas de baixa produção e em ambientes de calor não cíclicos, o que permitiu-se estabelecer um limite de ITU em 72 para que então a partir daí as vacas em lactação tivessem redução na produção de leite.

Segundo o NRC (2001), vacas leiteiras sob estresse térmico moderado à grave tem suas necessidades de manutenção aumentadas de 7 a 25%. Estudo conduzido por Johnson e Vanjonack (1976) relatou que a produção de leite diminuiu em 1,8 kg/d por vaca a cada aumento de 0,55°C na temperatura retal diária acima de 38,6°C. De forma semelhante, Zimbelman et al. (2009) avaliando os limites do ITU para que ocorram mudanças metabólicas em vacas estressadas por calor, observaram correlação negativa entre temperatura retal e produção de leite.

Em estudo realizado por Spiers et al. (2004) foi demonstrado que o consumo de matéria seca diminuiu um dia após o início do estresse térmico, enquanto que o reflexo na produção de leite ocorre 48 horas após. Resultado semelhante foi observado por Collier et al. (1982), que observaram pico máximo de redução na produção de leite 48 horas após início do estresse térmico em vacas leiteiras. Esse efeito pode ser explicado pelo fato de que o primeiro

mecanismo utilizando frente ao estresse térmico é a redução no consumo de matéria seca, que irá impactar negativamente na disponibilidade de nutrientes usados na síntese do leite, reduzindo assim a produção (WEST, 2003; RHOADS et al., 2009).

A redução do consumo de matéria seca pelas vacas frente ao estresse térmico é uma resposta fisiológica importante que mantém o equilíbrio térmico dos processos metabólicos e de fermentação ruminal que geram muito calor no corpo do animal (BEEDE, 1986). Concomitantemente, há aumento no metabolismo basal causado pela ativação do sistema termorregulador, com elevação das taxas de respiração e ingestão de água devido ao aumento da temperatura ambiental, que levam a reduções no consumo de matéria seca (ROMAN PONCE et al., 1977; MALLONEE et al., 1985; POLSKY, 2017). Estudos realizados por Wheelock et al. (2010) mostraram que redução na ingestão de matéria seca pode ser responsável por cerca de 40-50% na redução da produção de leite quando as vacas estão sob estresse térmico e que 50-60% pode ser explicado por outras alterações induzidas pelo estresse térmico. Assim, é crescente a possibilidade de que a redução na produção de leite durante estresse térmico poderá ser recuperada através de manejo nutricional apropriado.

Nesse sentido é preciso buscar alternativas, como o uso de aditivos, a fim de propiciar fatores que possam afetar positivamente a digestibilidade dos nutrientes (BEEDE, 1986). A redução no consumo causada pelo estresse térmico e o declínio na disponibilidade de nutrientes também podem levar a grande perda de peso corporal, levando o animal ao balanço energético negativo fisiológico (RHOADS et al., 2009), acompanhado por redução no escore de condição corporal (COLLARD et al., 2000; RHOADS et al., 2009; POLSKY, 2017). Ainda, a acessibilidade à água é o recurso muito importante para vacas leiteiras estressadas pelo calor, pois a ingestão poderá aumentar em 1,2 kg / ° C acima da temperatura ambiente (WEST, 2003).

Os mecanismos fisiológicos das vacas que possibilitam melhor dissipação do calor também levam ao aumento das necessidades de manutenção devido a elevação das necessidades nutricionais. Esses mecanismos incluem aumento nas frequências respiratória e cardíaca, sudorese e salivação (ATRIAN & SHAHRYAR, 2012). Estes, por sua vez, levam a aumento na perda de fluidos corporais que aumentam ainda mais as necessidades de manutenção para compensar a desidratação e homeostase sanguínea (COLLIER et al., 2006), resultando em alterações nas concentrações de metabólitos sanguíneos. Segundo McDowell et al. (1976) cerca de 15% da perda de calor corporal total pode ocorrer através da respiração normal. Enquanto que o aumento da frequência respiratória aumentar ainda mais o potencial dessa perda de calor (CAMPOS MAIA et al. 2005).

Estudo realizado por Zimbelman et al. (2009) em que foi realizado levantamento de dados de oito estudos ao longo de três anos, demonstrou que vacas que produzem mais de 35 kg/dia tem limiar de ITU em 68, e que a partir disso ocorre redução do consumo de MS e na produção de leite. Mais recente, estudo desenvolvido por Jeelani et al. (2019), cobriu intervalo de ITU de 68 a 86 levando quase 4 anos para ser concluído, e deixou evidente que as vacas sofrem pequenas mudanças no ITU 72, e que as grandes mudanças fisiológicas passam a ocorrer após o ITU atingir 74. Quando o ITU alcançou e cruzou 80, e os animais apresentaram grandes mudanças fisiológicas.

Nesse sentido é notório que existe grande variação entre os pesquisadores na definição de intervalo de valores ITU para expressar diferentes níveis de estresse, mas o que se torna consensual entre eles é que esse nível é dependente da localização geográfica em que se encontram essas vacas e do tipo animal no que se refere à produção diária.

Existem outros tipos de avaliações que podem ser realizadas nas vacas em lactação que podem ajudar a mensurar o estresse térmico. Um método comumente utilizado e bastante associado ao ITU é a avaliação de temperatura retal das vacas. Vários estudos apoiam o uso da temperatura retal como marcador do nível de estresse junto ao ITU. Dikmen e Hansen (2009) desenvolveram equações que compravam essa relação, além disso Soriani & Calamari (2013) mostram que estas medidas podem também estar associadas ao tempo de ruminação.

Visto que vacas de alta produção podem ser mais suscetíveis ao estresse térmico, Collier e Beede (1985) sugeriram três formas de gerenciar o resfriamento a fim de reduzir os efeitos do estresse, que são: a modificação física do ambiente, o desenvolvimento genético de raças menos sensíveis ao calor e o manejo nutricional dessas vacas.

Embora os sistemas de refrigeração tenham avançado bastante, o desenvolvimento genético ainda tem custo elevado para a maioria das propriedades de vacas leiteiras, o que traz à tona a grande necessidade de associá-los ao manejo nutricional adequado para estes animais, principalmente no período do verão. A indústria americana estima que há perda de bilhões de dólares anualmente pela redução na produção de leite devido ao estresse térmico, e essa preocupação é crescente devido às mudanças climáticas recorrentes e que vão em direção à ambientes cada vez mais quentes (WHEELLOCK et al, 2010).

Além da queda de produção e qualidade do leite em vacas estressadas pelo calor existem outros fatores que contribuem para esta questão econômica, que incluem doenças devido ao aumento dos distúrbios metabólicos, crescimento lento de novilhas e desempenho reprodutivo reduzido (COLLIER et al., 1982; WEST, 1999).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 LOCAL, INSTALAÇÕES E ANIMAIS

O experimento foi conduzido de 23 de janeiro a 09 abril de 2019 nas dependências do Laboratório de Pesquisa em Bovinos de Leite (LPBL) do Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), localizado em Pirassununga (SP).

As análises bromatológicas e de composição do leite foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do LPBL. As demais análises foram realizadas nas dependências do Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal do VNP; sendo a análise de insulina no sangue realizada nas dependências do Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal, Departamento de Ciências Animais, ESALQ/USP, Piracicaba.

Todos os procedimentos foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (protocolo número 8750141218).

5.2 ANIMAIS E DIETAS EXPERIMENTAIS

Foram utilizadas 40 vacas da raça Holandesa, com $637 \pm 97,5$ kg de peso corporal (PC), $187,4 \pm 115,47$ dias em lactação (DEL), com produção diária de leite de $27,2 \pm 5,2$ kg (média \pm DP) no início do experimento. As vacas foram alojadas em estábulo tipo *free-stall*, em baias individuais contendo cama de areia, ventilação forçada e livre acesso à água e alimentos. A temperatura média diária do galpão experimental, umidade relativa do ar e índice de temperatura-umidade foram $25 \pm 2,7^\circ\text{C}$ (média \pm DP), $69 \pm 8,57\%$ e $73 \pm 2,84$, respectivamente.

O experimento teve duração de 11 semanas (77 dias), sendo 2 semanas antes do início do fornecimento das dietas experimentais como covariável em que as vacas receberam a dieta controle. As semanas de coletas foram definidas como sendo as semanas 3, 6 e 9 após o início do fornecimento das dietas experimentais. Entre os dias 11 e 14 do período de covariável, foram mensuradas variáveis correspondentes ao consumo de matéria seca (CMS), produção e composição de leite, peso corporal, metabólitos sanguíneos, temperatura corporal das vacas e temperatura ambiental, frequências cardíacas e respiratórias, as quais foram utilizadas como covariável no modelo de análise estatística.

As dietas foram formuladas (proporção volumoso:concentrado de 48:52) conforme recomendações do NRC (2001) para vacas em lactação, com 52 meses de idade, 620 kg de PC, 3,5 % de gordura no leite, 220 de DEL, 30 kg/d de produção diária de leite e 2,98 % de proteína verdadeira no leite. A silagem de milho foi o único volumoso utilizado. A composição das dietas experimentais está descrita nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Ingredientes e composição química da dieta experimental.

<i>Dieta Experimental</i>	
<i>Ingredientes (g/Kg MS)</i>	
Silagem de milho	480
Milho moído	185,5
Farelo de soja, 48% PB	155,3
Polpa cítrica	82,7
Grão de soja inteiro	65,3
Minerais ¹	13,0
Bicarbonato de sódio	8,3
Calcário	7,3
NaCl	2,6
<i>Composição Química (g/Kg MS)</i>	
Matéria Seca (g/kg da MN)	575,3
Matéria orgânica	916,7
Carboidratos não fibrosos	359,7
Fibra em detergente neutro	387,7
Fibra em detergente ácido	240,4
Extrato etéreo	37,7
Proteína bruta	169,0
Lignina	45,0
PDIN ²	37,4
PIDA ³	18,9
Nutrientes digestíveis totais ⁴	67,32
Energia líquida de lactação ⁵ (Mcal/kg MS)	1,53

¹Conteúdo por kg de produto: 215g Ca, 15g Co, 700mg Cu, 10mg Cr, 20g S, 600mg F, 40mg I, 20g Mg, 1600mg Mn, 20mg Se, 70g Na, 200000 IU Vit A, 50000 IU Vit D3, 1500 IU Vit E, 2500 mg Zn. ² Proteína indigestível em

detergente neutro. ³ Proteína indigestível em detergente ácido. ⁴ Estimado segundo NRC (2001). ⁵ De acordo com Hall (2000).
 Fonte: Grigoletto (2020).

Tabela 2. Composição química dos ingredientes utilizados na dieta experimental.

Item	Ingredientes				
	Silagem de milho	Milho moído	Farelo de soja	Grão de soja	Polpa cítrica
<i>Composição Química (g/Kg MS)</i>					
Matéria seca	43,20	81,72	81,25	82,16	83,47
Matéria orgânica	94,27	98,71	93,34	94,25	90,45
Carboidratos não-fibrosos ¹	28,89	72,01	24,17	11,20	50,82
Fibra em detergente neutro	56,68	15,05	25,59	32,50	32,36
Fibra em detergente ácido	37,81	4,52	12,58	16,73	24,32
Amido	23,97	64,55	3,97	3,08	7,27
Extrato etéreo	2,36	4,15	2,36	19,25	2,93
Matéria mineral	5,73	1,29	6,66	5,75	9,55
Proteína bruta	8,46	10,02	50,45	40,49	7,06
Lignina	6,95	1,36	1,41	4,87	4,47
PDIN ²	2,12	2,52	9,22	9,19	2,71
PIDA ³	1,55	1,20	3,11	3,57	2,54
Nutrientes digestíveis totais ⁴	58,67	86,19	75,55	90,89	66,66

¹ Estimado segundo Hall (2000). ² Proteína indigestível em detergente neutro. ³ Proteína indigestível em detergente ácido. ⁴ Estimado segundo o NRC (2001).
 Fonte: Grigoletto (2020).

As vacas foram distribuídas nos blocos por produção de leite e DEL e distribuídas em delineamento em blocos ao acaso com arranjo fatorial 2 x 2 de tratamentos. Os animais foram distribuídos aleatoriamente para receber um dos quatro tratamentos experimentais, sendo eles: 1) Controle (CON), dieta basal sem inclusão de aditivos; 2) Monensina (MON), dieta basal com inclusão de monensina sódica (Rumensin[®], Elanco[®], São Paulo, Brasil) na dose de 20 mg/kg de MS da dieta; 3) Milk Sacc+[®] (MSC), dieta basal com inclusão de Milk Sacc+[®] (Alltech[®], Nicholasville, Kentucky, USA) na dose de 40 g/vaca/dia; 4) Dieta basal com inclusão da associação de MON + MSC (MMS; 20 mg/kg de monensina sódica e 40 g/vaca/dia de Milk Sacc+[®]). Os aditivos foram adicionados diretamente durante a preparação do concentrado na fábrica de ração. A dose de inclusão do MSC foi baseada na média de consumo observado nas

semanas de covariável. Milk Sacc+[®] é constituído por levedura viva *Saccharomyces cerevisiae*, glucanos, mannanas, selênio, cobre, zinco e cromo orgânicos.

5.3 CONSUMO DA MATÉRIA SECA E ANÁLISE DE ALIMENTOS

Os animais foram alimentados duas vezes ao dia, as 7:00 e as 13:00 horas, e a oferta foi ajustada de acordo com o consumo de matéria seca do dia anterior, de forma a ser mantido um percentual de sobras entre 5 e 10% do fornecido, foram coletados amostras diariamente durante todas as semanas do experimento, formando uma amostras composta por semana. Diariamente foram feitas pesagens das sobras de cada animal, para mensuração do consumo individual. Os alimentos foram misturados no cocho e fornecidos na forma de dieta total (TMR). Após o preparo da mistura no cocho, amostras da TMR e da silagem foram coletadas e armazenadas a -20 °C para posterior análises químico-bromatológicas. Além disso, amostras dos ingredientes do concentrado (100 g) foram coletadas na fábrica de ração durante a preparação e nas semanas de coletas.

As amostras de alimentos e sobras foram secas parcialmente em estufa de ventilação forçada, à 55 °C, por 72 horas, e processadas em moinhos de facas (TE-650, Tecnal Equipamentos para Laboratório, Piracicaba, SP, Brasil), utilizando peneiras com poros de 1 mm e de 2 mm. Posteriormente, as amostras de 1 mm foram analisadas quanto ao seu teor de matéria seca (MS; método 930.15; AOAC, 2000), proteína bruta (PB; $N \times 6.25$; Kjeldahl método 984.13; AOAC, 2000), extrato etéreo (EE; método 920.39; AOAC, 2000), FDA e lignina (método 973.18; AOAC, 2000), cinzas (MM; método 942.05; AOAC, 2000) e FDN, usando alfa-amilase (VAN SOEST et al., 1991) e a adição de sulfito de sódio (analisador de fibra TE-149, Tecnal Equipamentos para Laboratório, Piracicaba, SP, Brasil).

Amostras de alimentos foram analisadas também quanto ao teor de amido através de degradação enzimática (Amyloglucosidase[®], Novozymes, Curitiba, PR, Brasil) e as absorbâncias lidas em espectrofotômetro semiautomático (SBA-200, CELM[®], São Caetano do Sul, SP, Brasil), de acordo com Hendrix (1993). Ainda para caracterização das dietas, os alimentos foram analisados quanto aos teores de proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA) e proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN), determinados de acordo com Licitra, Hernandez e Van Soest (1996). As concentrações de carboidratos não fibrosos (CNF) foram estimadas, onde de acordo com a seguinte equação proposta por Hall (2000): $CNF: 100 - (\%FDN + \%PB + \%EE + \%cinzas)$. Os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) foram estimados conforme equações descritas no NRC (2001).

5.4 PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE

As vacas foram ordenhadas mecanicamente duas vezes ao dia (6h e 16h), sendo a produção de leite mensurada e registrada eletronicamente (Alpro[®], DeLaval, Tumba, Suíça) diariamente em todas as semanas do experimento. Para análise estatística, foram utilizadas as médias semanais de produção de leite. Amostras de leite foram coletadas nos 3^o, 4^o e 5^o dia de todas as semanas experimentais, e analisadas quanto aos teores de gordura, proteína e lactose por metodologia infravermelha (Lactoscan[®], Entelbra, Londrina/PR, Brasil). A produção de leite foi corrigida para 3,5% de gordura (PLCG), segundo fórmula descrita por Sklan et al. (1992):

$$3,5\% \text{ PLCG} = (0,432 + 0,1625 \times \% \text{gordura no leite}) \times PL \left(\frac{Kg}{d} \right)$$

Alíquotas (10 mL) das amostras de leite coletadas no 4^o dia das semanas de coletas foram desproteinizadas com ácido tricloroacético 25% (5 mL) de acordo com Broderick e Clayton (1997), filtradas em papel filtro e congeladas. Posteriormente, essas amostras foram analisadas quanto ao teor de ureia utilizando kits colorimétricos de bioquímica (K056; Bioclin[®]), sendo as leituras realizadas em espectrofotômetro semiautomático (SBA 200, CELM[®]), e quanto ao teor de alantoína de acordo com Chen e Gomes (1992) para determinação de síntese de proteína microbiana e balanço de nitrogênio.

5.5 DIGESTIBILIDADE APARENTE TOTAL

A digestibilidade aparente total (DAT) da matéria seca e dos nutrientes e a quantidade total de matéria seca fecal excretada foram estimadas pela concentração de fibra em detergente neutro indigestível (FDNi). Amostras de fezes foram coletadas diretamente do reto no 5^o, 6^o e 7^o dias das semanas de coletas, a cada 9 horas totalizando 8 amostras de fezes por vaca/período. Após cada coleta as amostras foram congeladas e ao final do período de coleta foi obtido um *pool* representativo de intervalo de 3 horas de um período de 24 horas. Posteriormente, as amostras foram pré-secas em estufa com ventilação forçada (55°C por 72 horas), e, processadas em moinho de facas com peneiras de porosidade 2 mm (TECNAL TE-650, Piracicaba, SP, Brasil). As amostras moídas em peneiras de 1 mm foram analisadas bromatologicamente conforme descrito anteriormente para consumo de nutrientes.

Para avaliação dos teores de FDNi, as amostras moídas a 2 mm de fezes, alimentos e sobras foram acondicionadas em sacos de tecido não-tecido (TNT-100g/m²), com dimensões

de 5 x 5 cm. As amostras foram acondicionadas em todos os sacos, segundo a relação de 20 mg de MS por cm² de superfície (NOCEK, 1988). Posteriormente, as amostras foram incubadas no rúmen de três vacas da raça Holandesa por 288 horas, segundo adaptação de técnica descrita por Huhtanen, Kaustell e Jaakkola (1994).

Após a retirada do rúmen os sacos foram lavados com água corrente até o total clareamento desta, e após isso, foram submetidos ao tratamento com detergente neutro, conforme descrito FDN por Van Soest et al. (1991), por uma hora, em equipamento analisador de fibra Tecnal[®] (TE-149). O FDNi foi utilizado para estimar a excreção total de fezes (ETF) baseada na ingestão de FDNi e concentração do mesmo nas fezes, por meio da seguinte equação:

$$ETF \left(\frac{kg}{dia} \right) = \frac{FDNi_{consumido} \left(\frac{Kg}{dia} \right)}{\left(\frac{Kg}{dia} \right) FDNi_{fezes}}$$

5.6 SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA E BALANÇO DE NITROGÊNIO

A estimativa da síntese proteína microbiana foi mensurada a partir da quantificação dos derivados de purinas na urina e no leite, de acordo com metodologia descrita por Chen e Gomes (1992), considerando-se a absorção de purinas a partir da fórmula sugerida por Verbic et al. (1990).

Amostras de urina foram coletadas de 9 em 9h; no 5º, 6º e 7º dias nas semanas de coletas, durante micção estimulada por massagem; totalizando 8 amostras de urina por vaca por período, de modo a formar um *pool* representativo de 24 h, retirando o efeito da variação diária na excreção urinária. Alíquotas de 10 mL de urina foram diluídas imediatamente em 40 mL de ácido sulfúrico a 0,036 N, para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas e a precipitação do ácido úrico. Após, as amostras foram armazenadas a – 20 °C para posteriores análises de N total, alantoína, ácido úrico e creatinina. As análises de alantoína na urina e no leite foram realizadas pelo método colorimétrico, conforme descrito por Chen & Gomes (1992). As determinações de creatinina e ácido úrico foram realizadas por meio de kits comerciais (Bioclin[®] K067 e K139 respectivamente).

A excreção urinária diária de creatinina foi considerada de 24,05 mg/kg de PC (CHIZZOTTI et al., 2008). Após a estimativa do volume diário de urina excretado, a excreção

total de derivados de purinas (DP) foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretados na urina e da quantidade de alantoína excretada no leite, expressas em mmol/dia.

As purinas absorvidas (X, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (DP, mmol/dia), por meio da equação:

$$X = \frac{DP - (0,512 \times PC^{0,75})}{0,84},$$

em que 0,84 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purinas e $0,512 \times PC^{0,75}$ a contribuição endógena para excreção de purinas (GONZALEZ-RONQUILLO et al., 2003). A síntese de compostos nitrogenados microbianos no rúmen (Y, g N/dia) foi calculada em função das purinas absorvidas (X, mmol/dia), por meio da equação:

$$Y = \frac{(70 \times X)}{(0,83 \times 0,134 \times 1000)}$$

Em que 70 representa o conteúdo de N nos derivados de purinas (mg N/mmol); 0,83, a digestibilidade das purinas microbianas, e 0,134, a relação N-purina: N total nas bactérias (VALADARES et al., 1999).

Adicionalmente, o balanço de compostos nitrogenados foi obtido pela diferença entre o total de nitrogênio ingerido (consumo PB/6,25) e a soma de nitrogênio excretado nas fezes, na urina e no leite (PB leite/6,38), correções conforme AOAC (2000).

5.7 AVALIAÇÃO DO PESO E ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL

As vacas foram avaliadas em relação ao escore de condição corporal (ECC) e o peso corporal semanalmente durante as semanas de experimentais. O peso dos animais foi correspondente à média de dois dias sucessivos de pesagens, sendo feitas antes do fornecimento das alimentações e após a ordenha da manhã. As mensurações do ECC foram realizadas semanalmente segundo metodologia proposta por Edmonson et al. (1989). Para o cálculo da variação de ECC e de peso corporal, foram considerados os pesos no início e ao final da semana experimental.

5.8 ÍNDICE DE SELEÇÃO DE PARTÍCULAS

Amostras de TMR e de sobras foram coletadas no 1° e 2° dia das semanas de coletas para avaliação da distribuição do tamanho de partículas utilizando um sistema separador de partículas com peneiras estratificadoras (Penn State Particle Separator – Nasco, Fort Atkinson, WI). O índice de seleção foi calculado como descrito por Silveira et al. (2007), sendo que o consumo dos animais correspondentes a cada peneira foi expresso pelo percentual do consumo total predito, a partir das equações abaixo:

$$\text{Consumo esperado} \left(\frac{\text{kg}}{\text{dia}} \right) = \text{consumo} \left(\frac{\text{kg NM}}{\text{dia}} \right) \times P_{\text{TMR}} \left(\frac{\text{kg}}{\text{kg}} \right)$$

$$\text{Consumo observado} \left(\frac{\text{kg}}{\text{d}} \right) = \left[\text{oferta} \left(\frac{\text{kg}}{\text{d}} \right) \times P_{\text{TMR}} \left(\frac{\text{kg}}{\text{kg}} \right) \right] - \left[\text{sobras} \left(\frac{\text{kg}}{\text{d}} \right) \times P_{\text{Sobras}} \left(\frac{\text{kg}}{\text{kg}} \right) \right]$$

$$\text{Índice de seleção} = \frac{\text{consumo observado} \left(\frac{\text{kg}}{\text{d}} \right)}{\text{consumo esperado} \left(\frac{\text{kg}}{\text{d}} \right)}$$

em que, P_{TMR} é o tamanho de partícula da TMR, e P_{Sobras} é o tamanho de partícula das sobras.

Interpreta-se o índice de seleção igual a 1 como ausência de seleção, quando < 1 indica seleção contrária ao tamanho de partícula e se > 1 , mostra que vacas preferiram um tamanho específico de partícula.

5.9 COMPORTAMENTO INGESTIVO

Os dados de comportamento ingestivo foram coletados nos 1° e 2° dia das semanas de coleta. Os animais foram observados durante 48 horas, em intervalos de 5 minutos, utilizando-se cronômetros digitais. No período noturno foi mantida baixa luminosidade dentro da instalação para que os observadores pudessem visualizar os animais nas baias, sem interferir no comportamento natural dos animais.

As vacas foram observadas para as seguintes atividades: comendo, deitada, em pé, bebendo água e em ordenha. Além disso, as vacas foram monitoradas através de um sistema de monitoramento eletrônico de ruminação (HealthyCow 24[®] Solution, SCR Allflex, Netanya, Israel). Dados de ruminação foram obtidos desde as 06:00 h do 1° dia às 06:00 h do 3° dia das

semanas de coleta, correspondendo ao intervalo de 48 horas. De acordo com as variáveis supracitadas, foram estabelecidos parâmetros que indicam a influência da quantidade e qualidade da dieta na atividade mastigatória dos animais, os quais são: tempo total de mastigação (soma de tempo mastigando com tempo ruminando), tempo total de ruminação, tempo total de ócio [24h – (consumo + alimentação + ordenha)].

5.10 PARÂMETROS SANGUÍNEOS

Amostras de sangue (10mL) foram coletadas 6° dia das semanas de coleta, por punção da vasos coccígeos, 4 horas após a alimentação da manhã em tubos vacuolizados sem ativador de coágulo (BD Vacutainer®, Becton, Dickinson and Company, NJ, EUA). Após cada coleta as amostras foram imediatamente refrigeradas até a centrifugação a 3000 rpm durante 15 minutos, para a separação do soro. O soro obtido foi transferido para tubetes plásticos, identificados e armazenados a -20 °C, para posteriores análises laboratoriais.

Foram analisados os parâmetros sanguíneos de glicose e ureia no soro por meio de kits comerciais (glicose: cat. n. K-082; ureia: cat. n. K-056; Bioclin®, Belo Horizonte, Brasil), que utilizam o método enzimático colorimétrico de ponto final ou cinético, e analisadas em equipamento automático para bioquímica sanguínea (SBA 200, CELM®). A análise de AGNE (ácidos graxos não esterificados) foi realizada por meio de kit comercial da marca Randox®, United Kingdom, e a leitura das absorvâncias em leitora de microplaca (Biochrom Asys UVM 340 Microplate Reader, Biochrom®, Cambridge, RU). A concentração de insulina foi medida por um equipamento quimioluminescente IMMULITE 1000 (Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, IL, EUA) em ensaio utilizando kits comerciais específicos para este equipamento e o intra-ensaio CV foi de 2,7% e 3,4% para o ajustador baixo e alto, respectivamente, e a sensibilidade do ensaio foi de 20 ng/ml.

5.11 ESTRESSE TÉRMICO E AVALIAÇÃO DO AMBIENTE E DOS ANIMAIS

As condições do ambiente que os animais estavam alojados foram registradas durante todo o período experimental através da mensuração dos parâmetros de temperatura média do ar, temperaturas máximas e mínimas, e umidade relativa do ar por meio de *dataloggers* (TagTemp Stick, Novus, Canoas, RS, Brasil). Esses dados foram mensurados a cada hora durante todo o experimento, sendo utilizadas as médias diárias das semanas experimentais como referência para o ITU. Os *dataloggers* foram colocados a 2 m de altura em ambos os

lados do *free-stall*. Considerou-se ITU a partir de 68 como limiar para condição de estresse térmico aos animais (Zimbelman et al. (2009). O ITU foi calculado segundo Mader et al. (2006), da seguinte forma:

$$ITU = (0,80 \times T) + \left[\left(\frac{UR}{100} \right) \times (T - 14,60) + 46,40 \right],$$

onde, T é temperatura do ambiente e UR é umidade relativa do ar.

Nos animais foram mensurados parâmetros relacionados às adaptações fisiológicas a altas temperaturas. Essas avaliações foram realizadas duas vezes ao dia (10h e 17:30h) nos 3º e 4º dia das semanas de coletas, e consistiram em: aferição da temperatura retal, medida através de termômetro digital; frequência cardíaca por auscultação; e frequência respiratória por avaliação dos movimentos respiratórios. Também foi mensurada a temperatura de superfície da pele em três diferentes pontos: frente, face e rúmen, com auxílio de termômetro infravermelho (Raynger® MX™ modelo RayMX4PU Raytek C, Santa Cruz, CA; acurácia 1,5%, resolução 0,1°C e emissividade 0,95).

5.12 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram inicialmente submetidos aos testes de normalidade dos resíduos (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variâncias (teste de Hartley), segundo Ott (1983), usando os procedimentos UNIVARIATE e GLM, respectivamente, do SAS (version 9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA). Foram analisados pelo PROC MIXED SAS, versão 9.4, de acordo com o modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + MON_i + MSC_j + MON \times MSC_{ij} + b_k + \omega_{ijk} + X_{ik} + S_l + S \times MON_{il} \\ + S \times MSC_{jl} + MON \times MSC \times S_{ijl} + e_{ijkl}$$

em que: $b_j \approx N(0; \sigma_j^2)$, $\omega_{ij} \approx N(0; \sigma_\omega^2)$ e $e_{ijk} \approx MVN$, onde: Y_{ijk} é a variável dependente; μ é a média geral; MON_i é o efeito fixo da adição de monensina ($i = 1$ e 2); MSC_j é o efeito fixo da adição de Milk Sacc+® ($j = 1$ e 2); b_k efeito aleatório de bloco ($k = 1$ à 10); ω_{ijk} erro aleatório associado a unidade experimental; X_{ik} a covariável da vaca dentro do bloco; S_l é o efeito fixo de semana ($l = 1$ à 3); $S \times MON_{ij}$, $S \times MSC_{jl}$, $MON \times MSC \times S_{ijl}$ e $MON \times MSC_{ij}$ são os efeitos de interação entre monensina, Milk Sacc+® e semana; e_{ijkl} é o erro

residual. N indica a distribuição normal dos dados k = variância associada ao bloco; σ_{ω}^2 = variância associada ao efeito aleatório do animal; MVN indica múltiplas variâncias com distribuição normal.

Dados de consumo de matéria seca, digestibilidade dos nutrientes, produção e composição do leite, PC, ECC, índice de seleção de partículas, comportamento ingestivo, parâmetros sanguíneos e fisiológicos das duas primeiras semanas do experimento foram utilizados como covariáveis. Ainda, para dados de estresse térmico nas vacas foi considerado efeito fixo de tempo e interação tempo, tratamento e semana.

Para o modelo foram testadas as seguintes matrizes de covariância: CS, CSH, AR (1), ARH (1), TOEP, TOEPH, UN, FA (1) e ANTE (1). A matriz foi escolhida pelo menor valor de Akaike (AICC). A correção dos graus de liberdade foi feita pelo método de Kenward e Rogers (1997). A significância foi declarada a $P \leq 0,05$. Diferenças entre tratamentos de $0,05 < P \leq 0,10$ foram consideradas tendências de significância.

6 RESULTADOS

6.1 CONSUMO DE MATÉRIA SECA E DIGESTIBILIDADE APARENTE TOTAL

A adição de MSC na dieta de vacas leiteiras aumentou o consumo de MS expresso em porcentagem do peso corporal ($P < 0,05$; Tabela 3). Além disso, vacas alimentadas com MSC tenderam a aumentar o consumo de MS em kg/dia ($P = 0,068$). No entanto, não foram observados resultados significativos para consumo e coeficientes de digestibilidade de nutrientes ($P > 0,10$).

Tabela 3. Consumo de matéria seca e nutrientes e digestibilidade aparente total de vacas leiteiras alimentadas com aditivos sob estresse térmico.

Item	Tratamentos ¹				EPM	P ²		
	CON	MON	MSC	MMS		MO	MSC	INT.
<i>Consumo, kg/d</i>								
Matéria seca	25,29	25,50	26,18	26,16	0,416	0,821	0,068	0,790
Matéria orgânica	22,91	23,91	24,51	23,45	1,035	0,974	0,563	0,289
Proteína bruta	4,02	4,19	4,29	4,11	0,175	0,990	0,574	0,278
FDN ³	10,41	10,91	11,20	10,70	0,481	0,999	0,516	0,258
Extrato etéreo	0,85	0,89	0,91	0,87	0,037	0,989	0,594	0,277
CNF ⁴	9,36	9,64	10,00	9,64	0,446	0,927	0,480	0,484
<i>Consumo, % PC</i>								
Matéria seca	4,02	4,06	4,17	4,22	0,068	0,539	0,033	0,898
FDN	1,68	1,77	1,81	1,80	0,068	0,580	0,207	0,400
<i>Coef. Digestibilidade aparente (%)</i>								
Matéria seca	67,88	68,26	67,74	67,61	0,268	0,595	0,109	0,283
Proteína bruta	67,65	68,09	66,96	67,64	0,661	0,404	0,397	0,856
Extrato etéreo	79,11	77,11	76,87	77,43	0,946	0,434	0,303	0,172
FDN	57,60	59,31	58,91	58,25	0,747	0,490	0,867	0,121
Matéria orgânica	70,77	71,37	70,55	70,42	0,354	0,506	0,106	0,305

¹CON: controle, sem adição de aditivos, MON: dieta basal com adição de monensina na dieta (20 mg/kg MS/dia), MSC: dieta basal com a adição de Milk Sacc +[®] (40g/ vaca/ dia), MMS: dieta basal com a adição de monensina (20 mg/kg MS/dia) e Milk Sacc+[®] (40g/ vaca/ dia) na dieta.

²Int: Efeito da adição de monensina (MON), Milk Sacc+[®] (MSC) e interação entre MON e MSC (INT.).

³: Fibra em detergente neutro.

⁴: Carboidrato não-fibroso estimado de acordo com Hall (2000).

Fonte: Grigoletto (2020).

6.2 PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE

Não houve efeito de interação entre MON e MSC no desempenho produtivo ($P > 0,05$). Vacas que receberam MSC na dieta aumentaram a produção de leite em kg/dia e PLCG em kg/dia ($P < 0,05$; Tabela 4). Além disso, vacas alimentadas com MSC apresentaram aumento da produção de gordura no leite, proteína e lactose ($P < 0,05$) e tendência em aumentar o teor de proteína e lactose no leite ($P = 0,062$). Por outro lado, não foram observados efeitos da adição do MSC na eficiência produtiva e no teor de gordura do leite ($P > 0,05$). A adição de MON

aumentou a concentração de nitrogênio ureico no leite ($P < 0,05$) e não influenciou a produção e composição do leite bem como eficiência produtiva ($P > 0,05$).

Tabela 4. Produção, composição do leite e eficiência produtiva de vacas leiteiras alimentadas com aditivos sob estresse térmico.

Item	Tratamentos ¹				EPM	P ²		
	CON	MON	MSC	MMS		MO	MSC	INT. ²
<i>Produção de leite Kg/dia</i>								
Produção	24,97	25,85	26,45	27,07	0,741	0,233	0,036	0,838
3,5% PLCG	26,94	27,10	27,91	28,92	0,872	0,327	0,028	0,495
Gordura	0,98	0,97	1,01	1,04	0,033	0,695	0,023	0,383
Proteína	0,82	0,86	0,88	0,91	0,024	0,103	0,010	0,881
Lactose	1,23	1,28	1,31	1,36	0,036	0,108	0,010	0,992
<i>Composição do leite %</i>								
Gordura	3,98	3,81	3,91	3,85	0,077	0,119	0,867	0,488
Proteína	3,34	3,35	3,36	3,37	0,012	0,494	0,080	0,727
Lactose	5,01	5,01	5,02	5,06	0,022	0,319	0,062	0,379
NUL ³ , mg/dL	15,88	18,40	16,50	17,52	0,772	0,026	0,865	0,339
<i>Eficiência</i>								
PL/CMS ⁴	0,95	0,99	0,98	1,00	0,030	0,145	0,411	0,671
PLCG/CMS ⁵	1,02	1,05	1,04	1,07	0,031	0,114	0,261	0,725

¹CON: controle, sem adição de aditivos, MON: dieta basal com adição de monensina na dieta (20 mg/kg MS/dia), MSC: dieta basal com a adição de Milk Sacc +[®] (40g/ vaca/ dia), MMS: dieta basal com a adição de monensina (20 mg/kg MS/dia) e Milk Sacc+[®] (40g/ vaca/ dia) na dieta.

²Int: Efeito da adição de monensina (MON), Milk Sacc+[®] (MSC) e interação entre MON e MSC (INT.).

³ Nitrogênio ureico no leite.

⁴ PL/CMS = produção de leite (kg/d) / consumo de matéria seca (kg/d);

⁵ PLCG/CMS = produção de leite corrigida para gordura (kg/d) / consumo de matéria seca (kg/d).

Fonte: Grigoletto (2020).

6.3 PARÂMETROS SANGUÍNEOS E SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA

O uso dos aditivos não apresentou efeitos sobre os parâmetros sanguíneos de glicose, ureia, AGNE e de insulina ($P > 0,05$; Tabela 5); bem como não houve resultados para excreção dos derivados de purinas e síntese de proteína microbiana e eficiência de síntese (SPM/CMS) ($P > 0,05$).

Tabela 5. Parâmetros sanguíneos e síntese de proteína microbiana de vacas leiteiras alimentadas com aditivos sob estresse térmico.

Item	Tratamentos ¹				EPM	P ²		
	CON	MON	MSC	MMS		MO	MSC	INT.
<i>Sangue</i>								
Uréia (mg/dL)	41,43	43,12	46,47	40,73	2,238	0,372	0,562	0,112
Glicose (mg/dL)	71,01	70,38	70,47	73,83	1,957	0,412	0,379	0,230
AGNE ³ (mmol/L)	0,433	0,439	0,423	0,426	0,250	0,850	0,614	0,951
Insulina (uIU/mL)	7,99	6,73	7,04	7,93	0,803	0,856	0,722	0,133
<i>Excreção (mmol/L)</i>								
Alantoína urina	288,00	304,60	264,35	242,37	30,721	0,929	0,166	0,529
Ácido úrico urina	109,73	134,63	116,97	122,86	13,978	0,255	0,865	0,479
Alantoína leite	34,98	38,81	34,27	25,36	6,976	0,723	0,289	0,297
Derivados purina	432,11	478,69	415,60	390,59	40,820	0,793	0,208	0,387
Proteína microbiana (kg/d)	2,004	2,220	1,925	1,809	0,190	0,794	0,207	0,389
Eficiência ⁴	0,142	0,145	0,121	0,112	0,018	0,834	0,102	0,722

¹CON: controle, sem adição de aditivos, MON: dieta basal com adição de monensina na dieta (20 mg/kg MS/dia), MSC: dieta basal com a adição de Milk Sacc +[®] (40g/ vaca/ dia), MMS: dieta basal com a adição de monensina (20 mg/kg MS/dia) e Milk Sacc+[®] (40g/ vaca/ dia) na dieta.

²Int: Efeito da adição de monensina (MON), Milk Sacc+[®] (MSC) e interação entre MON e MSC (INT.).

³:Ácidos graxos não esterificados.

⁴: Síntese de proteína microbiana (kg / d) / ingestão de matéria orgânica digestível (kg / d).

Fonte: Grigoletto (2020).

6.4 BALANÇO DE NITROGÊNIO

A inclusão MSC na dieta das vacas leiteiras aumentou na excreção de nitrogênio no leite ($P < 0,05$); contudo, não sendo observados efeitos para os demais parâmetros avaliados ($P > 0,05$; Tabela 6). Não foram observados efeitos nos parâmetros analisados para o balanço de nitrogênio para os demais tratamentos.

Tabela 6. Balanço de nitrogênio de vacas leiteiras alimentadas com aditivos sob estresse térmico.

Item	Tratamentos ¹				EPM	P ²		
	CON	MON	MSC	MMS		MO	MSC	INT.
<i>N, g/d</i>								
Consumo	626,38	657,00	680,03	659,09	29,600	0,854	0,294	0,331
Leite	122,48	134,50	139,47	144,25	7,367	0,148	0,025	0,525
Fezes	275,95	293,90	327,35	284,00	19,692	0,515	0,290	0,123
Urina	161,75	178,26	166,33	149,92	22,287	0,998	0,595	0,463
Balanço	66,196	50,338	46,879	80,919	23,640	0,679	0,797	0,261
<i>N, g/g NI³</i>								
Fecal	0,441	0,446	0,476	0,435	0,016	0,286	0,491	0,183
Leite	0,196	0,207	0,205	0,222	0,011	0,113	0,190	0,748
Urinarío	0,261	0,271	0,237	0,232	0,028	0,943	0,269	0,783
Balanço	0,100	0,074	0,080	0,109	0,033	0,962	0,803	0,382

¹CON: controle, sem adição de aditivos, MON: dieta basal com adição de monensina na dieta (20 mg/kg MS/dia), MSC: dieta basal com a adição de Milk Sacc+[®] (40g/ vaca/ dia), MMS: dieta basal com a adição de monensina (20 mg/kg MS/dia) e Milk Sacc+[®] (40g/ vaca/ dia) na dieta.

²Int: Efeito da adição de monensina (MON), Milk Sacc+[®] (MSC) e interação entre MON e MSC (INT.).

³NI: nitrogênio ingerido.

Fonte: Grigoletto (2020).

6.5 ÍNDICE DE SELEÇÃO DE PARTÍCULAS E COMPORTAMENTO ALIMENTAR

A adição de MSC na dieta de vacas leiteiras afetou o índice de seleção de partículas, sendo que as vacas alimentadas com esse aditivo selecionaram mais partículas entre 8 e 19 mm ($P < 0,05$) e rejeitaram partículas menores que 4 mm ($P < 0,05$; Tabela 7). No entanto, o mesmo comportamento observado para MSC não foi verificado para monensina em que a adição de monensina na dieta de vacas leiteiras não afetou a seleção de diferentes tamanhos de partícula ($P > 0,05$). Quando associados, MON e MSC promoveram um efeito no tempo (min/dia) em que esses animais mastigavam ($P < 0,05$), enquanto houve tendência a aumentar o tempo (min / dia) de mastigação ao usar MON ($P = 0,051$) ou MSC ($P = 0,052$). Observou-se também tendência de diminuição no tempo (min / dia) de ruminação quando se utilizou MON ($P = 0,069$) e MSC ($P = 0,059$). O uso do MSC na dieta de vacas leiteiras sob estresse térmico causou uma diminuição no tempo (min/dia) por kg de ingestão de FDN na ruminação ($P < 0,05$) e mastigação ($P < 0,05$; Tabela 8).

Não houve efeito ($P > 0,10$) causado pelo uso dos aditivos no tempo (min/dia) em que as vacas passaram deitadas, comendo, bebendo água, em pé e em ócio. Além disso, não foi

observado efeito ($P > 0,10$) no tempo (min / dia) de ingestão por kg de FDN de vacas leiteiras alimentadas com aditivos durante o verão.

Tabela 7. Índice de seleção e comportamento alimentar as vacas leiteiras alimentadas com aditivos sob estresse térmico.

Item	Tratamentos ¹				EPM	P ²		
	CON	MON	MSC	MMS		MO	MSC	INT.
<i>Consumo (kg/d)</i>								
> 19mm	0,954	0,953	0,954	0,972	0,015	0,569	0,514	0,512
19 – 8mm	0,986	0,982	0,995	0,991	0,003	0,309	0,021	0,920
8 – 4mm	0,997	0,996	0,998	0,997	0,004	0,881	0,783	0,964
< 4mm	1,038	1,042	1,028	1,026	0,006	0,858	0,040	0,683
<i>Comportamento alimentar, Atividade (min/dia)</i>								
Deitada	759,83	699,58	695,33	685,33	28,008	0,205	0,157	0,353
Comendo	286,25	301,08	296,25	305,83	14,206	0,237	0,472	0,797
Água	30,00	19,91	27,00	24,33	4,121	0,130	0,864	0,374
Em pé	194,17	235,25	250,00	243,67	24,169	0,473	0,190	0,330
Ruminando	477,67	467,94	466,37	398,70	20,851	0,069	0,059	0,167
Ócio ³	957,17	952,08	953,00	944,58	13,877	0,541	0,597	0,879
Mastigando ⁴	765,67	773,02	773,24	680,62	22,830	0,051	0,052	0,024
<i>Atividade min/kg de consumo FDN</i>								
Comendo	29,61	29,74	28,18	30,34	1,674	0,349	0,732	0,404
Ruminando	49,57	46,55	44,24	40,09	3,132	0,176	0,030	0,829
Mastigando	79,64	76,72	73,47	68,14	4,235	0,224	0,035	0,719

¹CON: controle, sem adição de aditivos, MON: dieta basal com adição de monensina na dieta (20 mg/kg MS/dia), MSC: dieta basal com a adição de Milk Sacc +[®] (40g/ vaca/ dia), MMS: dieta basal com a adição de monensina (20 mg/kg MS/dia) e Milk Sacc+[®] (40g/ vaca/ dia) na dieta.

²Int: Efeito da adição de monensina (MON), Milk Sacc+[®] (MSC) e interação entre MON e MSC (INT.).

³Ócio = 24h – (água + comendo + ordenha).

⁴Mastigação = comendo + ruminando.

Fonte: Grigoletto (2020).

6.6 PARÂMETROS TÉRMICOS DAS VACAS E DO AMBIENTE

Em geral, não foram observados efeitos ($P > 0,05$) para os parâmetros fisiológicos avaliados nas vacas em lactação alimentadas com MON, MSC e sua interação, sob estresse térmico (Tabela 8). Conforme demonstrado na Figura 1, observou-se durante as semanas 1 a 9 do período experimental dados ambientais dos estábulos onde estavam alocadas as vacas que

tiveram médias de temperatura $25 \pm 2,7^{\circ}\text{C}$ (média \pm DP), umidade relativa do ar de $69 \pm 8,57\%$ e índice de temperatura e umidade em $73 \pm 2,84$.

Tabela 8. Efeitos do uso de aditivos sob estresse térmico nas frequências cardíaca e respiratória, temperatura retal, temperatura da superfície da face, fronte e rúmen.

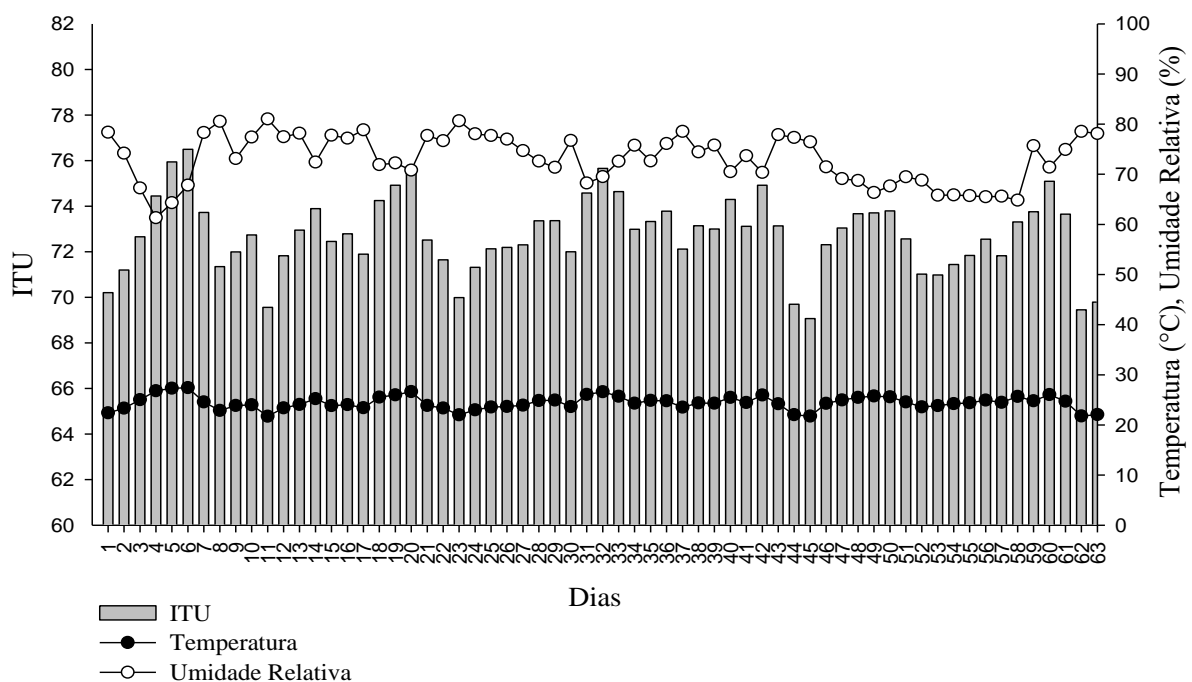
Item	Tratamentos ¹				EPM	P ²		
	CON	MON	MSC	MMS		MO	MSC	INT
<i>Parâmetros térmicos</i>								
Frequência cardíaca (min)	92,11	90,55	87,63	90,42	1,549	0,697	0,153	0,171
Frequência respiratória (min)	64,10	63,88	64,81	64,06	2,570	0,855	0,863	0,919
Temperatura Retal ($^{\circ}\text{C}$)	39,01	38,97	38,92	38,84	0,091	0,524	0,249	0,817
<i>Temperaturas de superfície ($^{\circ}\text{C}$)</i>								
Fronte	31,84	31,72	31,82	32,03	0,261	0,843	0,567	0,509
Face	33,02	33,02	33,44	33,32	0,320	0,852	0,235	0,835
Rúmen	33,75	33,37	33,55	33,67	0,278	0,585	0,834	0,277

¹CON: controle, sem adição de aditivos, MON: dieta basal com adição de monensina na dieta (20 mg/kg MS/dia), MSC: dieta basal com a adição de Milk Sacc+[®] (40g/ vaca/ dia), MMS: dieta basal com a adição de monensina (20 mg/kg MS/dia) e Milk Sacc+[®] (40g/ vaca/ dia) na dieta.

²Int: Efeito da adição de monensina (MON), Milk Sacc+[®] (MSC) e interação entre MON e MSC (INT.).

Fonte: Grigoletto (2020).

Figura 1. Índice de temperatura e umidade, temperatura e umidade relativa do ar durante o período experimental.



Fonte: Grigoletto (2020).

7 DISCUSSÃO

Ao nos referirmos ao uso de leveduras como aditivo na alimentação de vacas leiteiras temos que levar em consideração algumas condições, tais como; a espécie utilizada; origem, (resíduo da indústria de álcool ou cerveja); a maneira como está sendo processada sendo hidrolisada, seca, viva, ou células inteiras; e ofertada, adicionada no concentrado ou na TMR. Como já revisado anteriormente os efeitos do uso de *S. cerevisiae* podem ser diversos; e o resultado esperado com maior destaque é o aumento de produção de leite e eficiência. Outro fator de grande relevância na busca de melhores resultados é a situação ambiental que estas vacas se encontram, pois, vacas estressadas pelo calor podem ter respostas diferentes frente ao uso de aditivos, diferente de vacas alojadas em ambientes dentro da zona de conforto térmico.

Levando em consideração essas condições e os dados obtidos neste experimento, consideramos que as vacas estavam em situação de estresse térmico durante todo o período de avaliação. Nas condições deste estudo, o ITU médio apresentou valores acima do que foi relatado por Zimbelman et al. (2009) como o limite mínimo para mudanças no metabolismo do animal. Apesar disso, os resultados encontrados nos parâmetros fisiológicos, tais como as frequências cardíacas e respiratórias, temperaturas retal e de superfície das vacas não foram alterados frente ao uso de aditivos na situação ambiental encontrada durante o experimento. Esse resultado pode estar intrinsecamente relacionado ao ITU e a produção de leite média (kd/d) das vacas durante o experimento. Zimbelman et al. (2009) afirmam que as mudanças metabólicas começam a ocorrer em situações que o ITU apresenta valores acima de 68, especialmente em vacas com produção de leite média de 35 kg/d. Diferente do relatado por esses autores, em nosso estudo as vacas apresentaram produção média de leite de 26 kg/d, e além disso, Zimbelman et al. (2009) não relatam uso de aditivos na alimentação das vacas em seu trabalho fato que pode acarretar em mudanças desses limites.

Alguns autores relataram resultado em relação a temperatura retal das vacas alimentadas com levedura comercial. Ao incluí-la como aditivo na dieta de vacas a temperatura retal diminui, e esses resultados se devem a melhora no sistema digestivo, principalmente no intestino (BRUNO et al., 2009; GANDRA et al., 2019). Por outro lado, em estudo realizado por Salvati et al. (2015) utilizando 10g/d mix comercial composto por cepas de *S. cerevisiae* vivas e mortas não encontraram resultados para temperatura retal de vacas que receberam ou não levedura em suas dietas, semelhante ao resultado obtido neste experimento. Outra hipótese é de que coletas pontuais de temperatura retal, usando apenas dois pontos, tenham sido insuficientes para monitorar a variação desse tipo de parâmetro. Recentemente, Perdomo et al.

(2020) ao fazerem uso de *tags* retais e intravaginais, observaram resultados mais precisos e acurados quando comparados às coletas pontuais. Neste estudo o intervalo entre cada uma das avaliações foi menor (a cada 15 minutos), e foi possível relacionar a temperatura corporal das vacas com a mudança do ITU ao longo do dia. No estudo de Perdomo et al. (2020) foi observado resultado com efeito significativo para a adição de leveduras nas dietas (doses crescentes de levedura viva 0,5 e 1,0 g/d).

Para o tratamento MON os resultados de temperatura retal diferem dos observados por Baumgard et al. (2011) que usando dose de 450 mg de monensina por vaca por dia observaram aumento na temperatura retal no período de estresse térmico, assim como para frequência respiratória, dados que divergem dos apresentados no presente estudo. Os resultados encontrados neste trabalho para o uso de MON corroboram com Ghizzi et al. (2018) que utilizando dose de 22 mg/kg MS e coletas pontuais semelhantes também não encontraram efeitos sobre os parâmetros fisiológicos das vacas (temperaturas de superfície, retal e frequência respiratória).

Neste experimento foi observado aumento da produção de leite (+1,48 kg/d), PLCG e da produção de sólidos das vacas que receberam MSC. Resultados semelhantes foram encontrados por Moallem et al. (2009) e Salvati et al. (2015), que ao adicionarem leveduras na dieta de vacas leiteiras, obtiveram aumento na produção de leite de 1,5 kg/d e 1,3 kg/d, respectivamente. A adição de MSC na dieta de vacas leiteiras resultou em tendência de aumento do consumo de MS. Esse resultado se assemelha ao encontrado por Schingoethe et al. (2004) que ao avaliarem o uso de *S.cerevisiae* comercial (dose 60 g / vaca dia), também em período de estresse térmico, não obtiveram resultados significativos para CMS (kg/d). Já com relação ao CMS em %PC, houve aumento para as vacas que receberam MSC, resultado já conhecido pelo uso de *S. cerevisiae* viva na alimentação de ruminantes conforme foi relatado na meta-análise realizada por Desnoyers et al. (2009).

Levando em consideração os demais componentes que constituem o MSC, glucanos e mananas são polissacarídeos são degradados extracelularmente em monossacarídeos, permitindo sua entrada na célula bacteriana, sendo metabolizados por uma rota até piruvato, originando AGVs (ácidos graxos voláteis; Kozloski, 2016); os AGVs por sua vez, são precursores da produção de leite. Ainda considerando os componentes do MSC como levedura enriquecida com minerais orgânicos, estes podem proporcionar efeitos sob o desempenho de vacas em lactação. Vacas sob estresse térmico podem ter uma exigência maior de minerais pois nessas condições há uma exigência maior de energia para manutenção (Kadzere et al., 2002). Rabiee et al. (2010) em um estudo meta-analítico demonstrou que incluir minerais orgânicos

na alimentação das vacas aumenta produção e os componentes do leite, pois além de permitir melhor absorção dos nutrientes também pode apresentar melhora nos sistemas reprodutivos e imunológicos da vaca (Del Valle et al., 2015).

Não foram obtidos respostas para digestibilidade (%) de MS, MO, EE, FDN e PB. Resultados estes que corroboram com estudo desenvolvido por Ferreira et al. (2019) em que avaliaram o uso de levedura viva (*S. cerevisiae*, 0,05% da MS) e também não encontraram efeitos para DAT do FDN por vacas leiteiras. Esses resultados podem estar relacionados com a alteração da taxa de passagem. Alguns autores citam que o uso de *S. cerevisiae* aumentam a taxa de passagem, (NEWBOLD et al., 1990; CARRO; LEBZIEN; ROHR, 1992), em razão disso o tempo disponível para fermentação diminui, o que pode resultar em dados similares para DAT, fato que pode ter acontecido neste estudo.

Não houve alteração para CMS e DAT para as vacas que receberam MON neste estudo, reforçando os resultados já relatados por outros autores que utilizaram este aditivo com doses semelhantes em dietas de vacas em lactação, (BRODERICK, 2004; FERREIRA DE JESUS et al., 2016; VENDRAMINI et al., 2016; SILVA et al., 2018). A PL, PLCG e composição do leite não foi afetada pelo uso de MON, conforme descrito por Vendramini et al. (2016) utilizando dose semelhante (24 mg/Kg de MS). Já Duffield et al. (2008) relataram, em sua meta-análise, que o uso de MON na dieta de vacas em lactação reduziu o CMS e aumentou a PL, divergindo dos resultados encontrados neste estudo.

A relação encontrada neste experimento entre o aumento do CMS em % PC com o aumento da PL para as vacas que receberam a dieta composta por levedura é similar a encontrada na meta-análise realizada por Desnoyers et al. (2009), que usou dados de 157 experimentos com leveduras na alimentação de ruminantes. Além disso, esses autores destacaram nesta meta-análise os principais efeitos que interferem nos resultados finais de experimentos que utilizam leveduras nas dietas de ruminantes como o aumento do pH ruminal (+0,03 em média), concentração de ácidos graxos voláteis (+2,17 mM em média) e tendência em diminuir ácido láctico no rúmen (-0,09 mM em média).

Essa redução do ácido láctico é esperada, conforme descrito por Newbold et al. (1996), quando utilizadas leveduras para ruminantes estas estimulam o crescimento de bactérias gram-negativas, que, por sua vez, consomem ácido láctico presente no rúmen. Esse aumento numérico das bactérias estimula a captação de oxigênio, proporcionando ambiente ruminal mais adequado para produção de ácidos graxos voláteis, melhorando a digestão das fibras, e colaborando para o aumento de PL. Assim, apesar de não termos analisado os parâmetros ruminais das vacas neste experimento, podemos hipotetizar que o resultado encontrado para

CMS e PL pode estar relacionado à melhora do ambiente ruminal proporcionada pelo uso das leveduras na alimentação das vacas.

Ao utilizar culturas de levedura com células vivas de *S. cerevisiae*, Williams et al. (1991) encontraram aumento na estabilidade ruminal em termos de pH ruminal, concentração de lactato e relação acetato:propionato. Além de observarem o ambiente ruminal mais estável, os autores também encontraram aumento das bactérias anaeróbicas totais, o que poderia explicar o aumento de bactérias celulolíticas observado quando foram adicionadas culturas de levedura. Resultados semelhante aos relatados por Williams et al. (1991) também foram encontrados por Pinloche et al. (2013), o que nos leva a hipotetizar que a utilização de MSC possa ter modificado a microbiota ruminal das vacas permitindo um melhor aproveitamento dos nutrientes da dieta, possibilitando maior eficiência em absorvê-los ao longo do trato gastrointestinal, podendo haver aumento da produção dos ácidos graxos voláteis precursores do processo produtivo. Todos esses fatores culminam no aumento na produção de leite.

Ainda nesse sentido, mais estudos em relação à microbiota do trato gastrointestinal das vacas que recebem aditivos precisam ser realizados. Sabe-se que o intestino abriga grande população de células imunológicas no corpo bem como microbiota capaz de superar células hospedeiras com aptidão patogênicas, dessa forma compreender as interações entre esses componentes no intestino é o que nos permite relacioná-los à saúde e produtividade dos bovinos.

Há vários aspectos que podem influenciar o CMS, DAT e PL de vacas em lactação alimentadas com aditivos, e estes ainda não foram totalmente esclarecidos. Devemos sempre levar em consideração a fase de lactação em que a vaca se encontra, a quantidade e qualidade do volumoso ofertado, produção de leite média, DEL, dose do aditivo e a forma como está sendo ofertado. Williams e Newbold (1990) apontam que o uso de leveduras vivas na dieta de vacas no início de lactação quando combinadas à maiores teores de amido torna-se mais vantajoso, uma vez que permite a modulação da concentração de lactato no rúmen.

Nessa perspectiva, embora não tenham sido observados resultados para digestibilidade de fibra, pode-se observar nos resultados da avaliação do índice de seleção de partículas que apontam para maior consumo de partículas entre 19 – 8 mm ($P = 0,021$) e menor consumo de partículas inferiores a 4 mm ($P = 0,040$) para as vacas que receberam o tratamento composto pelo MSC. Assim, é possível hipotetizar que a inclusão deste aditivo proporcionou um ambiente ruminal consistente, que pode estar relacionado à estabilidade do pH ruminal em consequência do metabolismo de ácido lático e relacionados à atividade mastigatória das frações ingeridas de fibra na dieta, e que permite mudanças na taxa de passagem, CMS e PL ao longo do dia. Esse

comportamento pode ser observado durante a atividade ingestiva em min/Kg de consumo de FDN, onde o tratamento MSC diminuiu a atividade de ruminar e mastigar.

Resultado semelhante foi encontrado por Devries e Chevaux (2014), ao descreverem que o uso de aditivo composto por *S. cerevisiae* viva e seca pode ter grande potencial em remodelar o comportamento alimentar de vacas leiteiras, onde a redução da atividade mastigatória pode ser efeito secundário da redução da ruminação, devido à provável estabilização do pH ruminal. Considerando que a atividade mastigatória facilita a hidratação das partículas, rompe as barreiras físicas auxiliando na penetração e colonização do alimento pelas bactérias ruminais; e considerando que a degradação deste alimento está diretamente relacionada à aderência bacteriana nas partículas do alimento sendo afetada pelo pH ruminal, pode-se dizer que as alterações da atividade mastigatória têm relação intrínseca com a mudança da microbiota ruminal causada pela ação dos aditivos alimentares.

Nesse sentido, espera-se que ao adicionar os aditivos simultaneamente (MMS), a atividade mastigatória em min / dia pudesse aumentar sua atividade, uma vez que havia tendências em aumentar atividade para os tratamentos MS e MO individualmente; no entanto, não foi o que aconteceu, a interação dos aditivos mostrou uma redução na atividade mastigatória, demonstrando assim que não há efeito sinérgico do uso desses aditivos.

Os parâmetros sanguíneos como ureia, glicose, AGNE e insulina não foram influenciados com a inclusão do aditivo. Alterações metabólicas significativas podem ser esperadas, como redução nos teores de AGNE; uma vez que o catabolismo metabólico limita a mobilização de reservas e, conseqüentemente, reduz a concentração de glicose plasmática, que nesta situação é direcionada para produção de leite (BAUMGARD et al, 2017); ainda, essa condição geralmente causa aumento dos teores de insulina no organismo (KOSTER e OPSOMER, 2013). Leiva et al. (2016) estudando alterações metabólicas e fisiológicas com vacas sob estresse térmico obtiveram resultados semelhantes para glicose e AGNE, porém tiveram aumento de insulina para os animais tratados com aditivo comercial por consequência ao aumento do CMS e sensibilidade reduzida de insulina. Nasiri et al. (2019) correlaciona a falta de alterações nas respostas de insulina entre os tratamentos (com ou sem inclusão de levedura comercial) com a ausência de resultados nos níveis de AGNE, porém na literatura não há respostas claras sobre o efeito da levedura sobre a insulina em vacas leiteiras.

Além disso, os dados obtidos neste experimento mostram que não houve influência das dietas na síntese de proteína microbiana, eficiência de síntese e derivados de purina. Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Bitencourt et al. (2011) que também não obtiveram resultados significativos em SPM, eficiência de síntese e DP, quando utilizado

produto comercial composto de levedura *S. cerevisiae*. Em relação ao uso da MON, Gehman et al. (2008) também não encontraram efeitos para as variáveis citadas. Em contrapartida, vacas que receberam MON em suas dietas tiveram aumento significativo do NUL, sugerindo uma menor eficiência de utilização de nitrogênio para produção de leite, isso pode estar relacionado a mudança da microbiota do rúmen proporcionada pela ação deste ionóforo. Huhtanen et al. (2015) estudando eficiência do uso de N por vacas, relacionam diferenças das concentrações com a microbiota do rúmen e a produção de ácidos graxos de cadeia curta principalmente das proporções molares do propionato e butirato. Esse resultado é semelhante ao encontrado por Broderick et al. (2004), que ao utilizar uma dose de 10 mg de MON na dieta das vacas obtiveram aumento de 0,5 mg de N/dl do NUL.

Observou-se também que vacas alimentadas com MSC apresentaram aumento na excreção de nitrogênio no leite, e esse resultado está diretamente relacionado ao aumento da produção de proteína no leite. Com relação aos resultados de excreção de nitrogênio na urina e fezes não foram encontrados diferenças, corroborando com a descrição feita por Denev et al. (2007), que sugerem que o uso de leveduras na alimentação de vacas altera benéficamente o metabolismo de nitrogênio, aumentando a eficiência de conversão do nitrogênio amoniacal em proteína microbiana.

A complexibilidade da cinética ruminal frente a otimização do consumo de diferentes aditivos, traz à tona uma ideia de que o sinergismo seja muito eficiente. Neste estudo não observamos efeitos sinérgicos interessantes, como os possíveis relatados por Newbold et al. (1996), em que associação entre levedura e ionóforo pode minimizar a depressão de gordura no leite (efeito conhecido em uso do ionóforo) e aumento do crescimento de bactérias fibrolíticas demonstrando melhora na digestibilidade de FDN (efeito relativo ao uso de levedura).

8 CONCLUSÃO

O aditivo Milk Sacc+[®] é uma opção viável ao uso de monensina na alimentação das vacas de média produção durante o período de estresse térmico. Seu uso na dose de 40g/vaca/dia aumenta a produção e composição do leite sem alteração de consumo de matéria seca. Embora não avaliado no presente estudo os resultados sugerem otimização em nível de rúmen dos nutrientes ingeridos quando utilizado aditivo composto por levedura e minerais orgânicos na dieta de vacas em lactação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAMBEL, M. J.; TUNG, R. S. Effects of yeasts on the rumen ecosystem. *In: RUMEN FUNCTION CONFERENCE*, Chicago, 1987.
- ARMSTRONG, D.V. Heat stress interactions with shade and cooling. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 2044-2050, 1994.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 17th ed. Arlington, VA, EUA, 2000.
- ATRIAN, P.; SHAHRYAR, H. A. Heat stress in dairy cows (a review). *In: Zoology*, v. 2, p. 31- 37, 2012.
- BABINCOVÁ, M.; BACOVA, Z.; MACHOVA, E.; KOGAN, G. Antioxidant activity of carboxymethyl glucan: Comparative analysis. **Journal of Medical Food**, v.5, p.79-83, 2002.
- BAGG, R. **Mode of action of ionophores in lactating dairy cattle**. Usefulness of ionophores in lactating dairy cattle. Guelph: Ontario Veterinary College, p.13–21,1997.
- BAHT, R.; RAI, R. V.; KARIM, A. A. Mycotoxins in food and feed: present status and future concerns. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v.9, p. 57-81, 2010.
- BAPTISTA, A. S. **Saccharomyces cerevisiae em milho armazenado e o efeito na redução de aflotoxinas**. Dissertação (mestrado em ciências) Escola Superior de Agricultura “Luiz Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 84f. 2001.
- BAUMGARD, L. H.; WHEELLOCK, J. B.; SANDERS, S. R.; MOORE, C. E.; GREEN H. B.; WALDRON, M. R.; RHOADS, R. P. Postabsorptive carbohydrate adaptations to heat stress and monensin supplementation in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.94, p. 5620-5633, 2011. doi: 10.3168/jds.2011-4462
- BAUMGARD, L. H.; COLLIER, R. J.; BAUMAN, D. E. *A 100-Year Review: Regulation of nutrient partitioning to support lactation*. **Journal of Dairy Science**, v.100, p.10353–10366, 2017.
<https://doi.org/10.3168/jds.2017-13242>
- BEEDE, D. K., AND R. J. COLLIER. Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. **Journal Animal Science**, v.62, p.543-554,1986.
- BEESON, W.M.; PERRY, T.W.; REYNOLDS, P.J. The effect of surfactants on the growth rate of swine. **Journal Animal Science**, v. 12, p 619-622, 1953.
- BERGEN, W.G., BATES, D.B. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. **Journal Animal Science**, v.58, p.1465-1483, 1984.

BERTO, D. A. **Levedura seca de destilarias de álcool de cana-de-açúcar (*Saccharomyces spp.*) na alimentação de leitões em recria.** Dissertação mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1985.

BITENCOURT, L.L.; Silva, J.R.M.; Oliveira, B.M.L.; Dias, G.S.; Jnr Lopes, F.; Siécola, S.; Jnr Zacaroni, O.; Pereira, M.N. Diet digestibility and performance of dairy cows supplemented with live yeast. **Science Agriculture**, 68, pp. 301-307, 2011.

BRODERICK, G. A., and M. K. CLAYTON. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal Dairy Science**, v.80, p. 2964–2971. 1997.

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.

BRUNO, R.G.S.; RUTIGLIANO, H.M.; CERRI, R.L.; ROBINSON, P.H.; SANTOS, J.E.P. Effect of feeding *Saccharomyces Cerevisiae* on performance of dairy cows during summer heat stress. **Animal Feed Science and Technology**, v.150, p. 175–186, 2009.

CALLAWAY, T. R.; EDRINGTON, T. S.; RYCHLIK, J. L.; GENOVESE, K. J.; POOLE, T. L.; JUNG, Y. S.; BISCHOFF, K. M.; ANDERSON, R. C.; DAVID J. NISBET. Ionophores: Their Use as Ruminant Growth Promotants and Impact on Food Safety. **Current Issues in Intestinal Microbiology**, v. 4 p. 43-51, 2003.

CAMPOS MAIA, A. S., GOMES DASILVA, R.; BATTISTON LOUREIRO, C. M. Respiratory heat loss of Holstein cows in a tropical environment. **Intitute Journal Biometerolical**, v.49, p.332-336, 2005.

CARRO, M. D., P. LEBZIEN, AND K. ROHR. Effects of yeast culture on rumen fermentation, digestibility and duodenal flow in dairy cows fed a silage-based diet. **Livestock Science**, v.32, p.219-229, 1992.

CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; N. D., WALKER; A., BACH. Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, p. 5-26. 2008.

CHEN, X. B.; GOMES, M. J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details. Aberdeen: Rowett Research Institute: **International Feed Research Unit**. Bucksburnd, p.21, 1992.

CHIZZOTTI, M. L.; VALADARES, S. C.; VALADARES FILHO, R.F.D.; CHIZZOTTI, F. H. M.; TEDESCHI, L. O. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science**, v. 113, n.2-3, p. 218-225, 2008.

COLLARD, B. L.; BOETTCHER, P. J.; DEKKERS, J. C. M.; PETITCLERC, D.; SCHAEFFER, L. R. Relationships between energy balance and health traits of dairy cattle in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.83, p. 2683–2690, 2000.

COLLIER, R.J., and BEEDE, D.K. **Thermal stress as a factor associated with nutrient requirements and interrelationships.** *In: Nutrition of Grazing Ruminants.* (ed) by L. McDowell. Academic Press, New York, NY. 1985. p 59-71.

COLLIER, R.J.; DOELGER, S.G.; HEAD, H.H.; THATCHER, W.W; WILCOX, C.J. Effects of heat stress during pregnancy on maternal hormone concentrations, calf birth weight and postpartum milk yield of Holstein cows. **Journal Animal Science**, v. 54(2), p. 309-319, 1982.

COLLIER, R. J.; DAHL, G. E; VANBAALE, M. J. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p.1244-1253, 2006.

DEL VALLE, T. A.; FERREIRA DE JESUS, E.; PAIVA, P. G.; BETTERO, V. P. ZANFERARI, F. ACEDO, T. S.; TAMASSIA, L. F. M. RENNÓ, F. P. Effect of organic sources of minerals on fat-corrected milk yield of dairy cows in confinement. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.44, p.103-108, 2015.

DENEV, S.A.; PEEVA, T. Z; RADULOVA, P.; STANCHEVA, N.; STAYKOVA, G.; BEEV, G.; TODOROVA, P.; TCHOBANOVA, S. Yeast cultures in ruminant nutrition. **Bulgarian Journal of Agriculture Science**, v.13, p. 357-374, 2007.

DEVRIES, T. J.; CHEVAUX, E. Modification of the feeding behavior of dairy cows through live yeast supplementation. **Journal of Dairy Science**, v.97, p.6499–6510, 2014. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8226>

DESNOYERS, M., GIGER-REVERDIN, S., BERTIN, G., DUVAUX-PONTER, C., SAUVANT, D. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.1620–1632, 2009.

DIAZ, D. E.; HAGLER, W. M.; BLACKWELDER, J. T.; EVE, J. A.; HOPKINS, B. A.; ANDERSON, K. L.; JONES, F. T.; WHITLOW, L. W. Aflatoxin binders II: Reduction of aflatoxin M1 in milk by sequestering agents of cows consuming aflatoxin in feed. **Mycopathologia**, v.157, p. 233–241, 2004.

DIETRICH-MUSKALSKA, A.; OLAS, B.; KONTEK, B.; RABE-JABLONSKA, J. Beta-glucan from *Saccharomyces cerevisiae* reduces plasma lipid peroxidation induced by haloperidol. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.49, p. 113-116, 2011.

DIKMEN S.; P.J. HANSEN. Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? **Journal of Dairy Science**, v. 92, p.109-116, 2009.

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, p.1347–1360, 2008. doi:10.3168/jds.2007-0608

EDMONSON, A. J.; LEAN, I. J.; WEAVER, L. D.; FARVER, T.; WEBSTER, G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 1, p. 68-78, 1989.

ENGSTAD R.E. & ROBERTSEN B. Recognition of yeast cell wall glucan by Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) macrophages. **Dev. Comp. Immunol.**, v. 17, p. 319-330, 1993.

FAO. Food and Agriculture Organization of United States. **Food Outlook Biannual Report on global Food Markets**. Roma, ITA, 2007.

FERREIRA DE JESUS, E. F.; DEL VALLE, T. A.; CALOMENI, G. D.; SILVA, T. H.; TAKIYA, C. S.; VENDRAMINI, T. H. A.; PAIVA, P. G.; SILVA, G. G.; NETTO, A. S.; RENNO, F. P. Influence of a blend of functional oils or monensin on nutrient intake and digestibility, ruminal fermentation and milk production of dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 219, p. 59-67, 2016.

FERREIRA, G. *Short communication*: Production performance and nutrient digestibility of lactating dairy cows fed diets with and without addition of a live-yeast supplement. **Journal of Dairy Science**, v.102, p.11057–11060, 2019. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17265>

FERREIRA, G.; RICHARDSON, E. S.; TEETS, C. L.; AKAY, V. Production performance and nutrient digestibility of lactating dairy cows fed low-forage diets with and without the addition of a live-yeast supplement. **Journal of Dairy Science**, v.102, p. 6174-6179, 2019. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16396>

FURCO, A. M. Produção de biomassa de levedura de destilarias de álcool. In: “WORKSHOP” PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE LEVEDURA: UTILIZAÇÃO EM ALIMENTAÇÃO HUMANA E ANIMAL, 1997, Campinas. **Anais**: Campinas, Ital, 1997. P.52-58.

GANDRA, J. R.; RENNÓ, F. P.; FREITAS JÚNIOR, J. E.; SANTOS, M. V. PRADA E SILVA, L. F.; ARAÚJO, A. P. C. Productive performance and milk protein fraction composition of dairy cows supplemented with sodium monensin. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 8, p. 1810-1817, 2010.

GANDRA, JEFFERSON R.; TAKIYA, CAIO S.; VALLE, TIAGO A. DEL; ORBACH, NATYARO D.; FERRAZ, IGOR R.; OLIVEIRA, EUCLIDES R.; GOES, RAFAEL H.T.B.; GANDRA, ERIKA R.S.; PEREIRA, THAIS L.; BATISTA, JAMILLE D.O.; ARAKI, HAYNE M.C.; DAMIANI, JULIANE; ESCOBAR, ANDREI Z. Influence of a feed additive containing vitamin B12 and yeast extract on milk production and body temperature of grazing dairy cows under high temperature-humidity index environment. **Livestock Science**, v. 221, p. 28-32, 2019. doi:10.1016/j.livsci.2019.01.012.

GEHMAN, A. M.; KONONOFF, P. J.; MULLINS, C. R.; JANICEK, B. N. Evaluation of Nitrogen Utilization and the Effects of Monensin in Dairy Cows Fed Brown Midrib Corn Silage. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.288–300, 2008. doi:10.3168/jds.2007-0098

GHIZZI, L. G.; DEL VALLE, T. A.; TAKIYA, C. S.; SILVA, G. G.; ZILIO, E. M. C.; GRIGOLETTO, N. T. S.; MARTELLO, L. S.; RENNÓ, F. P. Effects of functional oils on ruminal fermentation, rectal temperature, and performance of dairy cows under high temperature humidity index environment. **Animal Feed Science and Tecnology**; v.246, p. 158-166, 2018.

GUO, Y.; ALI, R. A.; QURESHI, M. A. The influence of beta-glucan on immune responses in broiler chicks. **Immunopharmacol Immunotoxicol.**, v. 25, p. 461–472, 2003.

GONÇALVES, B. L.; GONÇALVES, J. L.; ROSIM, R. E.; CAPPATO, L. P.; CRUZ, A. G.; OLIVEIRA, C. A. F.; CORASSIN; C. H. Effects of different sources of *Saccharomyces cerevisiae* biomass on milk production, composition, and aflatoxin M1 excretion in milk from dairy cows fed aflatoxin B1. **Journal of Dairy Science**, v.100, p.5701–5708, 2017. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12215>

HALL, M. B. Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non-protein nitrogen. **Gainesville: University of Florida**, 2000. p. A-25 (Bulletin, 339).

HANEY, JR. M, E.; HOEHN, M. M. Monensin, a new biologically active compound. I. discovery and isolation. **Antimicrobial Agents Chemother**, p.349, 1967.

HARRISON, G.A.; HEMKEN, R.W.; DAWSON, K.A. Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial population. **Journal of Dairy Science**, v.71, p. 2967-2975, 1988.

HAYES, D. P.; PFEIFFER, D. U.; WILLIAMSON, N. B. Effect of intraruminal monensin capsules on reproductive performance and milk production of dairy cows fed pasture. **Journal of Dairy Science**, v. 79, p. 1000-1008, 1996.

HUBER, J.T., HIGGINBOTHAM, G., GOMEZ-ALARCON, R.A., TAYLOR, R.B., CHEN, K.H., CHAN, S.C.; WU, Z. Heat stress interactions with protein, supplemental fat, and fungal cultures. **Journal of Dairy Science**, v.77, p. 2080–2090, 1994.

HUHTANEN, P.; KAUSTELL, K.; JAAKKOLA, S. The use of internal markers to predict total digestibility and duodenal flow of nutrients in cattle given six different diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.48, p.211-227, 1994

HUHTANEN, P.; CABEZAS-GARCIA, E. H.; KRIZSAN, S. J.; SHINGFIELD, K. J. Evaluation of between-cow variation in milk urea and rumen ammonia nitrogen concentrations and the association with nitrogen utilization and diet digestibility in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.98, p. 3182-3196, 2015. [doi.org/ 10.3168/jds.2014-8215](https://doi.org/10.3168/jds.2014-8215)

JEELANI, R.; KONWAR, D.; KHANA, A.; KUMARB, D.; CHAKRABORTYB, D.; BRAHMAA, B. Reassessment of temperature-humidity index for measuring heat stress in crossbred dairy cattle of a sub-tropical region. **Journal of Thermal Biology**, v82, p.99-106, 2019. doi.org/10.1016/j.jtherbio.2019.03.017

JIANG, Y.; OGUNADE, I. M.; KIM, D. H.; LI, X.; PECH-CERVANTES, A. A.; ARRIOLA, K. G.; OLIVEIRA, A. S.; DRIVER, J. P.; FERRARETTO, L. F.; STAPLES, C. R.; VYAS, D.; ADESOGAN, A. T. Effect of adding clay with or without a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on the health and performance of lactating dairy cows challenged with dietary aflatoxin B1. **Journal of Dairy Science**, v101, p.1–13, 2018.

JOHNSON, H.D., and VANJONACK, W.J. Effects of environmental and other stressors on blood hormone patterns in lactating animals. **Journal of Dairy Science**, v. 59, p. 1603–1617, 1976.

- KADZERE, C. T.; MURPHY, M. R.; SILANIKOVE, N.; MALTZ, E. Heat stress in lactating dairy cows: a review. **Livestock Production Science**, v.77, p. 59-91, 2002.
- KLIS, F. M.; BOORSMA, A.; DE GROOT, P. W.J. Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae*. **Yeast**, v.23, p. 185-202, 2006.
- KOSTER de JD; OPSOMER G. Insulin resistance in dairy cows. **Vet Clin North Am Food Anim Pract.**, v. 29(2), p. 299-322, 2013. doi:10.1016/j.cvfa.2013.04.002
- KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. 3.ed. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2011. 214p.
- LASSITER, C.A.; HUFFMAN, C.F.; DUNCAN, C.W. Effect of a live yeast culture and trimethylalkylammonium stearate on the performance of milking cows. **Journal of Dairy Science**, v. 41, p. 1077-1080, 1958.
- LEIVA, T.; COOKE, R. F.; BRANDÃO, A. P.; PARDELLI, U.; RODRIGUES, R. O.; CORRÁ, F. N.; VASCONCELOS, J. L. M. Effects of concentrate type and chromium propionate on insulin sensitivity, productive and reproductive parameters of lactating dairy cows consuming excessive energy. **Animal**, v.11; p.436-444, 2016. doi:10.1017/S1751731116001713
- LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 57, p. 347-358, 1996.
- MALLONEE, P. G., D. K. BEEDE, R. J. COLLIER AND C. J. WILCOX. Production and physiological responses of dairy cows to varying dietary potassium during heat stress. **Journal of Dairy Science**, v.68, p.1479, 1985.
- MADER, T.L., DAVIS, M.S., BROWN-BRANDL, T. Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 712-719, 2006.
- MAGNANI, M.; CASTRO-GÓMEZ, R. J. H. Beta-Glucana de *Saccharomyces cerevisiae*. **Semina Ciências Agrárias**, v. 29, n. 3, p. 631 – 650, 2008. doi: 10.5433/1679-0359.
- McDOWELL, R. E., N. W. HOOVEN, AND J. K. CAMOENS. Effects of climate on performance of Holsteins in first lactation. **Journal of Dairy Science** v. 59, p. 965-973, 1976.
- 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. 194-203, 2001.
- McGUFFEY, R.K. A 100-Year Review: Metabolic modifiers in dairy cattle nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 10113-10142, 2017.
- MOALLEM, U.; LEHRER, H.; LIVSHITZ, L.; ZACHUT, M.; YAKOBY, S. The effects of live yeast supplementation to dairy cows during the hot season on production, feed efficiency, and digestibility. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.343-351, 2009.

MOREIRA, I.; MARCOS JÚNIOR, M.; FURLAN, A. C.; PATRÍCIO, V. M. I.; OLIVEIRA, G. C. Uso de levedura seca por “spray-dry” como fonte de proteína para suíno em crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v.31, supl., p. 962-969, 2002.

MORRIS, F. E.; BRANINE, M E.; GALYEAN, M. L.; HUBBERT, M. E.; FREEMAN, A. S.; LOFGREEN, G. P. Effect of rotating monensin plus tylosin and lasalocid on performance, ruminal fermentation, and site and extent of digestion in feedlot cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 68, p. 3069-3078, 1990.

MULLINS, C. R.; MAMEDOVA, L. K.; BROUK, M. J.; MOORE, C. E; GREEN, H. B.; PERFIELD, K. L.; SMITH, J. F.; HARNER, J. P.; BRADFORD, B. J. Effects of monensin on metabolic parameters, feeding behavior, and productivity of transition dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 95, p.1323-1336, 2012.

NAGAJARA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; VAN NEVEL, C.J. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOSON, P.N.; STEWART, C.S. (Ed.). **The Rumen Microbial ecosystem**. London: Blackie Academic & Professional, p. 523-632, 1997.

NASIRI, A.H.; TOWHIDI, A.; SHAKERI, M.; ZHANDI, M.; DEHGHAN-BANADAKY, M.; POOYAN, H.R.; SEHATI, F.; ROSTAMI, F.; KARAMZADEH, A.; KHANI, M.; AHMADI, F. Effects of *saccharomyces cerevisiae* supplementation on milk production, insulin sensitivity and immune response in transition dairy cows during hot season. *Animal Feed Science and Technology*, v. 251, p.112-123, 2019.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 7. rev. ed. Washington, D.C.: **National Academic Press, National Academy of Science**, 2001.

NEWBOLD, C. J.; WALLACE, R. J.; MCKAIN, N. Effects of the ionophore tetronasin on nitrogen metabolism by ruminal microorganisms in vitro. **Journal Animal Science**, v.68, p.1103-1109, 1990.

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

NEWBOLD, C. J.; WALLACE, R. J.; WALKER-BAX, N. D. Potentiation by metal ions of the efficacy of the ionophores, monensin and tetronasin, towards four species of ruminal bacteria. **Fems Microbiology Letters**, v. 4, p. 161 – 167, 2013.

NOCEK, J.E. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility. A review. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 2051-2069, 1988.

NOCEK, J. E.; HOLT, M. G.; OPPY, J. Effects of supplementation with yeast culture and enzymatically hydrolyzed yeast on performance of early lactation dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 4046–4056, 2011.

OLIVEIRA, M.T. **Inclusão de levedura hidrolisada e levedura seca na dieta de leitões recém desmamados**. Universidade Federal de Viçosa, dissertação de mestrado em ciência veterinária. 65f. 2012.

OGUNADE, I. M.; ARRIOLA, K. G.; JIANG, Y.; DRIVER, J. P.; STAPLES, C. R.; ADESOGAN, A. T. Effects of 3 sequestering agents on milk aflatoxin M1 concentration and the performance and immune status of dairy cows fed diets artificially contaminated with aflatoxin B1. **Journal of Dairy Science**, v.99, p. 6263–6273, 2016.

OWENS, F. N.; ZORRILLA-RIOS, J.; DUBESKI, P. Effects of ionophores on metabolism, growth, body composition and meat quality. In: PEARSON, A. M.; DUTSON, T. R. **Growth regulation in farm animal**: advances in meat research. London. Elsevier, 1991. p. 321-342.

OWENS, F. N.; GOETSCH, A. L. **Ruminal fermentation**, In: The Ruminant Animal: Digestive physiology and nutrition. D. C. Church (Ed.) p. 145-171. Waveland press, New Jersey. 1993.

PARRA, A. R. P. **Levedura spray dry (álcool e cervejaria) na alimentação de suínos**. Universidade Estadual de Maringá, tese de doutorado em zootecnia. 67p. 2009.

PERDOMO, M. C.; MARSOLA, R. S.; FAVORETO, M. G.; ADESOGAN, A.; STAPLES, C. R.; SANTOS, J. E. P. Effects of feeding live yeast at 2 dosages on performance and feeding behavior of dairy cows under heat stress. **Journal of Dairy Science**, v.103, p.325–339, 2020. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17303>

PINLOCHE, E.; MCEWAN, N.; MARDEN, J. P.; BAYOURTHE, C.; AUCLAIR, E.; NEWBOLD, C. J. The effects of a probiotic yeast on the bacterial diversity and population structure in the rumen of cattle. **Plos One**, v. 8, e. 97824, 2013. doi:10.1371/journal.pone.0067824.

POLSKY, L., VON KEYSERLINGK, M.A.G. Effects of heat stress on dairy cattle welfare. **Journal of Dairy Science**, v.100, p.8645-8657, 2017.

PRESSMAN, B.C. Biological applications of ionophores. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 45, p. 501-530, 1976.

RABIEE, A. R.; LEAN, I. J.; STEVENSON, M. A.; SOCHA, M. T. Effects of feeding organic trace minerals on milk production and reproductive performance in lactating dairy cows: A meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 4239-4251, 2010.

REYNOLDS, C. K.; HARMON, D. L.; CECAVA, M. J. Absorption and delivery of nutrients for milk protein-synthesis by portal drained viscera. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 2787–2808, 1994.

RHOADS, M.L., RHOADS, R.P., BAALE, M.J., COLLIER, R.J., SANDERS, S.R., WEBER, W.J., CROOCKER, B.A., BAUMGARD, L.H. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.1986-1997. 2009.

ROEMER, T.G.; PARAVICINMI, M. A.; PAWON, BUSSM, H. Characterization of the yeast 1,6-beta-glucan biosynthetic components, Kre6p and Sknlp, and genetic interations between the PKCL pathway and extracellular matrix assembly. **Journal of Cell Biology**, v. 127, p. 567-579, 1994.

ROMAN PONCE, H.; THATCHER, W. W.; BUFFINGTON, D. E.; WILCOX, C. J.; VAN HORN, H. H. Physiological and production responses of dairy cattle to a shade structure in a subtropical environment. **Journal of Dairy Science**, v. 60, p.424, 1977.

ROSSI, I.; GIOVANI, G. Effect of some winemaking variables on the production of exopolysaccharides by *Saccharomyces cerevisiae*. In: Lonvaun-Funel, a., et al. (Ed.) **7th International Symposium of Oenology**, p. 324-328, 2003.

RUSSEL, J.B. A proposed model of monensin action in inhibiting ruminal bacteria growth: effects on ion flux and proton motive force. **Journal of Dairy Science**, v.64, p. 1519-1525, 1987.

RUSSEL, J.B.; STROBEL, H.J. Effect of ionophores on ruminal fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 55, p. 1-6, 1989.

SALVATI, G. G. S.; MORAIS JÚNIOR, N. N.; MELO, A. C. S.; VILELA, R. R.; CARDOSO, F. F.; ARONOVICH, M.; PEREIRA, R. A. N.; PEREIRA, M. N. Response of lactating cows to live yeast supplementation during summer. **Journal of Dairy Science**, v.98, p. 4062–4073, 2015. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-9215>

SAUER, F. D.; FELLNER, V.; KINSMAN, R. Methane output and lactation response in Holstein cattle with monensin or unsaturated fat added to the diet. **Journal Animal Science**, v. 76, p. 906–914, 1998.

SCHELLING, G.T. Monensin mode of action in the rumen. **Journal Animal Science**, v.58(6), p.1518-1527, 1984. doi:10.2527/jas1984.5861518x

SCHINGOETHE, D.J.; LINKE, K.N., KALSCHEUR, K.F., HIPPEN, A.R., RENNICH, D.R., YOON, I. Feed efficiency of mid-lactation dairy cows fed yeast culture during summer **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 4178–4181, 2004.

SKLAN, D.; ASHKENAZI, R.; BRUN, A.; DEVORIN, A.; TABORI, K. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids, and cottonseeds fed to high yielding cows, **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 2463-2472, 1992.

SILVA, C. C. **Avaliação do uso de levedura (*Saccharomyces Cerevisiae*) inativa e hidrolisada nas dietas iniciais de leitões**. Dissertação (mestrado-qualidade e produtividade animal). 124f. Universidade de São Paulo, Campus Pirassununga/SP, 2009.

SILVA, G. G.; TAKIYA, C. S.; DEL VALLE, T.A.; JESUS, E. F.; SCOGNAMIGLIO, N. T.; NAKADONARI, B.; CORTINHAS, C. S.; ACEDO, T. S.; RENNO, F. P. Nutrient digestibility, ruminal fermentation, and milk yield in dairy cows fed a blend of essential oils and amylase. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 9815-9826, 2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14789>

SILVEIRA, C.; OBA, M.; YANG, W. Z.; BEAUCHEMIN, K.A. Selection of barley grain affects ruminal fermentation, starch digestibility, and productivity of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 6, p. 2860-2869, 2007.

SORIANI, N., G. PANELLA, AND L. CALAMARI. Rumination time during the summer season and its relationships with metabolic conditions and milk production. **Journal of Dairy Science**, v.96, p.5082-5094, 2013.

SPIERS, D. E.; EICHEN, P. A.; LEONARD, M. J.; WAX, L. E.; ROTTINGHAUS, G. E.; WILLIAMS, J. E.; COLLING, D. P. Benefit of dietary seaweed (*Ascophyllum nodosum*) extract in reducing heat strain and fescue toxicosis: a comparative evaluation. **Journal Thermal Biology**, v. 29 (7/8), p. 753-757, 2004.

VALADARES, R. F. D.; BRODERICK, G. A.; VALADARES FILHO, S. C.; CLAYTON, M. K. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2686-2696, 1999.

VAN SOEST, P. J.; MASON, V. C. The influence of Maillard reaction upon the nutritive value of fibrous feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 32, n. 1, p. 45-53, 1991.

VENDRAMINI, T.H.A.; TAKIYA, C.S.; SILVA, T.H.; ZANFERARI, F.; RENTAS, M.F.; BERTONI, J.C.; CONSENTINI, C.E.C.; GARDINAL, R.; ACEDO, T.S.; RENNÓ, F.P. 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.

VERBIC, J.; CHEN, X. B.; MACLEOD, N. A.; ORSKOV, E. R. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal Agriculture Science**, v. 114, p. 243-248, 1990.

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

WALLACE, R.J.; NEWBOLD, C.J. Probiotics for ruminants. *In*: FULLER, R. (Ed). **Probiotics, the scientific basics**. London. Chapman and Hall, p. 317-353, 1992.

WEST, J. W.; G. M. HILL; J. M. FERNANDEZ; P. MANDEBVU; B. G. MULLINIX. Effects of dietary fiber on intake, milk yield, and digestion by lactating dairy cows during cool or hot, humid weather. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p.2455-2465, 1999.

WEST, J.W. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 2131-2144, 2003.

WHEELOCK, J.B.; La NOCE, A.J.; O'BRIEN, M.D.; SANDERS, S.R.; COLLIER, R.J.; BAUMGARD, L.H.; RHOADS, R.P. The effect of heat stress and exogenous bovine somatotropin on expression of genes associated with hepatic gluconeogenesis in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91 (Suppl. 1) p. 455 (abstr), 2008.

WHEELOCK, J.B.; RHOADS, R.P.; VANBAALE, M.J.; SANDERS, S. R.; BAMGARD, L.H. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. **Journal Dairy Science**, v. 93(2), p.644-655, 2010. doi: 10.3168/jds.2009-2295.

WILLIAMS, P.E.V.; TAIT, C.A.G.; INNES, G.M.; C. J. NEWBOLD. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen steers. **Journal Animal Science**, v.69, p. 3016-3026, 1991.

ZANUTTO, C. A. **Utilização de levedura de recuperação (*Saccharomyces spp.*) seca por “spray-dry” ou por rolo rotativo na alimentação de leitões na fase inicial.** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 1997. 54p. Dissertação (mestrado em zootecnia) – Universidade de Maringá, 1997.

ZIMBELMAN, R. B.; RHOADS, R. P.; RHOADS, M. L.; DUFF, G. C.; BAUMGARD, L. H.; COLLIER, R. J. A re-evaluation of the impact of temperature humidity index (THI) and black globe humidity index (BGHI) on milk production in high producing dairy cows. ***In*: Proc. Southwest Nutr. Man. Conf. Tempe, Arizona, p. 158-168, 2009.**