

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**EFEITOS DO TRATAMENTO COM NIACINA PROTEGIDA E LEVEDURA  
RICA EM CROMO EM VACAS HOLANDESAS SUBMETIDAS À ESTRESSE  
TÉRMICO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Adelina Rodrigues Aires**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2012**

**EFEITOS DO TRATAMENTO COM NIACINA PROTEGIDA E  
LEVEDURA RICA EM CROMO EM VACAS HOLANDESAS  
SUBMETIDAS À ESTRESSE TÉRMICO**

por

**Adelina Rodrigues Aires**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Clínica Médica da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**

**Orientador: Marta Lizandra do Rego Leal.**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2012**

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária  
Departamento de Clínica de Grandes Animais**

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

**EFEITOS DO TRATAMENTO COM NIACINA PROTEGIDA E LEVEDURA  
RICA EM CROMO EM VACAS HOLANDESAS SUBMETIDAS À ESTRESSE  
TÉRMICO**

Elaborado por  
**Adelina Rodrigues Aires**

Como requisito parcial para a obtenção do grau de  
**Mestre em Medicina Veterinária**

**Comissão Examinadora**

---

**Marta Lizandra do Rêgo Leal, Dra, UFSM**  
(Presidente/orientadora)

---

**Marcelo da Silva Cecim, Phd, UFSM**

---

**Sérgio da Silva Fialho, Dr, UFSM**

Santa Maria, 24 fevereiro de 2012.

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais, Pedro e Helena, pelo apoio, por todo o esforço, sacrifícios e dedicação que me impulsionaram a seguir adiante.

Ao meu marido, Vineton, meu amigo, meu alicerce, pela compreensão e paciência, por sempre estar ao meu lado.

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Santa Maria, pela formação e pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

Ao CNPq pela concessão da bolsa.

A minha orientadora, professora Marta Leal, pela amizade, pela dedicação, por todo o apoio, durante todo esse tempo de convivência.

Ao professor Laerte Nörngerg pela co-orientação e valiosas sugestões.

Aos colegas Diego Zeni e Marcell Milani pela ajuda e amizade. A participação de vocês foi essencial.

Aos amigos do Lema pela ajuda, pelas horas de sono perdidas em minha companhia (Thirssa e Fernanda C.), por “horas-extra” em função de processamento de amostras (Felippo e Fernandinha), enfim a todos que de alguma forma fizeram parte desse processo.

Ao Marcio Bohrz, por permitir a realização deste trabalho na propriedade de sua família.

A todo o pessoal da fazenda Bohrz, pela ajuda incondicional, pela amizade e companhia durante toda a realização do experimento.

## **RESUMO**

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária  
Universidade Federal de Santa Maria

### **EFEITOS DO TRATAMENTO COM NIACINA PROTEGIDA E LEVEDURA RICA EM CROMO EM VACAS HOLANDESAS SUBMETIDAS À ESTRESSE TÉRMICO**

AUTOR: Adelina Rodrigues Aires  
ORIENTADORA: MARTA LIZANDRA DO RÊGO LEAL  
Santa Maria, 24 de fevereiro de 2012.

Vacas leiteiras submetidas à ambientes quentes apresentam consideráveis perdas produtivas. O uso de cromo e niacina são opções nutricionais usadas com efeitos satisfatórios para melhorar o desempenho nessas situações. No entanto, o cromo na forma de cromo-levedura e a niacina na forma protegida ainda não foram utilizados em conjunto em animais submetidos à estresse pelo calor, sendo este o objetivo do presente estudo. Os parâmetros produtivo, comportamental e metabólico de vacas leiteiras submetidas à estresse térmico foram avaliados. Foram utilizadas 46 vacas holandesas em lactação, mantidas em sistema de criação free-stall, durante os dias 2 de fevereiro à 11 de março de 2011. Os animais foram divididos em quatro tratamentos: niacina protegida (GN), levedura rica em cromo (GCr), niacina+cromo (GNCr) e controle (GC). A produção de leite foi anotada diariamente. Amostras de sangue foram coletadas nos dias zero, 12, 26 e 37 para determinação de ácidos graxos não esterificados (AGNE),  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB), glicose, colesterol, insulina, cortisol, tetraiodotironina ( $T_4$ ) e triiodotironina ( $T_3$ ). Amostras de leite foram coletadas nos dias zero, 7, 28 e 35 para contagem de células somáticas (CCS) e determinação de nitrogênio uréico do leite (NUL). Os comportamentos ingestivo, de consumo de água, de ruminação e de ócio foram observados uma vez por semana, durante 24h. O uso de cromo mais niacina aumentou a produção de leite em relação ao uso isolado desses suplementos. O GCr apresentou o menor valor de BHB, enquanto o GN apresentou o maior valor. O GN apresentou maiores teores de colesterol que o grupo GNCr. Houve diferença também nos grupos GN e GCr quanto os valores de  $T_3$ , sendo que o GN apresentou os maiores teores. A contagem de células somáticas (CCS) foi menor nos animais suplementados com niacina (GN e GNCr). O NUL foi maior nos grupos que receberam niacina em comparação ao grupo que recebeu apenas cromo. Os animais que receberam niacina, permaneceram deitados com maior frequência em comparação ao grupo controle, entre às 13 e 18 h. No intervalo das 19 às 24 h houve maior ingestão de água pelos animais que receberam niacina e maior atividade de ruminação em animais que receberam cromo. O uso de cromo+niacina tem efeito positivo na produção de leite, bem como na redução da CCS em animais submetidos à estresse térmico. O incremento de 7% na produção de leite gerado pela administração da niacina+ cromo na produção apresenta uma alternativa aos produtores que necessitam manter a produção de seu rebanho em períodos de clima quente.

## ABSTRACT

Dissertação de mestrado  
Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária  
Universidade Federal de Santa Maria

### EFFECT OF SUPPLEMENTATION WITH NIACIN PROTECTED AND CHROMIUM-YEAST UNDER HEAT STRESS HOLSTEIN COWS

AUTOR: Adelina Rodrigues Aires  
ORIENTADOR: MARTA LIZANDRA DO RÊGO LEAL  
Santa Maria, 24 de fevereiro, 2012.

Dairy cows subjected to hot environments have considerable production losses. The use of chromium and niacin nutritional options are used with satisfactory effects to improve performance in these situations. However, in the form of chromium yeast and chromium-niacin as protected have not been used together in animals subjected to heat stress, which is the purpose of this study. The production parameters, and metabolic behavior of dairy cows subjected to heat stress were evaluated. We used 46 lactating Holstein cows were kept in breeding system free stall, during the days February 2 to March 11, 2011. The animals were divided into four treatments: protected niacin (GN), yeast rich in chromium (GCr), niacin + chromium (GNCr) and control (GC). Milk production was recorded daily. Blood samples were collected on days zero, 12, 26 and 37 for determination of non-esterified fatty acids (NEFA),  $\beta$ -hydroxybutyrate (BHB), glucose, cholesterol, insulin, cortisol, tetraiodothyronine ( $T^4$ ) and triiodothyronine ( $T^3$ ). Milk samples were collected on days zero, 7, 28 and 35 for somatic cell count (SCC) and determination of milk urea nitrogen (MUN). The ingestive behavior of water consumption, rumination and idleness were seen once a week for 24 hours. The use of more chromium niacin increased milk production compared to isolated use of these supplements. The GCr had the lowest value of BHB, while GN had the highest value. The GN had higher cholesterol levels than the group GNCr. There were also differences in the groups GN and GCr and the values of  $T^3$ , and GN showed the highest levels. The somatic cell count (SCC) was lower in animals supplemented with niacin (GNCr and NG). The MUN was higher in the groups receiving niacin compared to the group that received only chromium. The animals that received niacin, remained lying down more frequently compared to the control group, between 13 and 18 h. In the interval from 19 to 24 h water intake was higher for animals receiving niacin and higher rumination activity in animals receiving chromium. The use of chromium + niacin has a positive effect on milk production, as well as the reduction of SCC in animals submitted to heat stress. The 7% increase in milk production generated by the administration of niacin + chromium in the production presents an alternative for producers who need to maintain the production of his flock during periods of hot weather.

## **LISTA DE TABELAS**

### **CAPÍTULO 2**

TABELA 1 - Efeito dos tratamentos com niacina, cromo, niacina + cromo em vacas leiteiras submetidas a estresse térmico na produção e parâmetros de leite, parâmetros sanguíneos e temperatura de superfície.....	37
--	----

# LISTA DE FIGURAS

## CAPÍTULO 1

FIGURA 1 – Dinâmica da temperatura corporal e do gasto de energia de acordo com as zonas térmicas.....12

FIGURA 2 – Animal respirando de boca aberta e salivando excessivamente, sinais característicos de estresse térmico.....13

## CAPÍTULO 2

FIGURA 1 - Efeitos dos tratamentos sobre o comportamento de ingestão de água e de alimento, ruminação, ócio deitado e ócio em estação..... 38

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2. CAPÍTULO 1.....</b>	<b>11</b>
<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>11</b>
2.1. Estresse Térmico.....	11
2.2. Cromo.....	18
2.3. Niacina.....	19
<b>3. CAPÍTULO 2.....</b>	<b>22</b>
<b>MANUSTRITO.....</b>	<b>22</b>
Resumo.....	23
Abstract.....	23
Introdução.....	24
Material e Métodos.....	25
Resultados e Discussão.....	27
Referências.....	31
<b>4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>39</b>
<b>5. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>40</b>

# 1. INTRODUÇÃO

Uma produção de leite eficiente refere-se à capacidade de se produzir com baixo custo e de forma constante durante todo um ciclo produtivo. Muitos são os fatores que interferem nesta dinâmica. Entre os quais, a genética do rebanho, a nutrição, a sanidade, as fontes alimentares de baixo custo, a mão-de-obra qualificada e as condições ambientais apropriadas, surgem como alguns dos principais elementos dessa relação.

Apesar de o Brasil ser o quinto país em produção de leite, sua produtividade não apresenta um crescimento tão significativo quando comparado a países como os Estados Unidos da América (EUA) e Arábia Saudita. Do ano de 2000 a 2009, a produtividade brasileira aumentou apenas 169 Kg/vaca/ano, enquanto nos EUA esse aumento foi de 1.078 Kg/vaca/ano (EMBRAPA, 2011). Uma das razões desse maior crescimento americano refere-se à preocupação com as condições climáticas e a busca por tecnologias para minimizar os efeitos do calor, as quais vêm sendo estudadas há muito tempo neste país. Em 1947, SEATH e MILLER já realizavam estudos em busca de alternativas para reduzir os efeitos do calor em vacas leiteiras.

Os custos e perdas relacionados ao estresse térmico em vacas leiteiras são ligados a perdas diretas, como queda de produção de leite, aumento de dias em aberto e custos com prevenção do estresse térmico; e indiretas, como redução de qualidade de leite, ocorrência de mastites e baixa imunidade. Nos EUA as perdas causadas pelo calor e suas conseqüências variam de \$897 à \$1500 milhões por ano (ST-PIERRE et al., 2003).

A preocupação com o clima e seus efeitos na produção difundiu-se e nos últimos anos, para amenizar os efeitos do calor nos rebanhos, no mundo inteiro, surgem alternativas para manter a produção e melhorar o bem-estar de vacas leiteiras criadas em clima tropical. Alguns trabalhos demonstraram a eficiência de sistemas de alimentação (MALLONEE et al., 1985; WEST, 1999; DRACKLEY et al., 2003), ambiência (MARTELLO et al., 2004; MEIRELES, 2005) e climatização (FUQUAY et al., 1979; MARTELLO, 2002; ARCARO JÚNIOR et al., 2005) como métodos para reduzir o estresse térmico em diferentes sistemas de criação.

Alternativas nutricionais foram estudadas (MALLONEE et al., 1985; DRACKLEY et al., 2003; SHWARTZ et al., 2009) e recomendadas para minimizar os

efeitos do estresse térmico, no entanto existem muitas alternativas em potencial que ainda não foram totalmente elucidadas.

## **2. CAPÍTULO 1**

### **REVISÃO DE LITERATURA**

#### **2.1. Estresse térmico**

Os bovinos são classificados como animais homeotermos possuindo mecanismos fisiológicos responsáveis pela manutenção da temperatura corporal em valor relativamente constante. Quando estes animais se encontram em uma determinada faixa de temperatura ambiental amena, considerada zona de conforto térmico, estas funções termorreguladoras têm uma baixa utilização (NÄÄS, 1989). Então, dentro da zona de conforto, a temperatura corporal é mantida sem grande esforço orgânico.

O contrário acontece nas situações em que os limites térmicos ideais, inferior ou superior, são ultrapassados. Nessas circunstâncias o organismo direciona boa parte de sua energia para atividades de manutenção térmica. Esse redirecionamento funcional determina vários prejuízos para as atividades produtivas dos animais, já que a manutenção da homeotermia é prioritária em relação a atividades como produção de leite e reprodução (MARTELLO et al., 2004). Dessa forma, o ambiente exerce forte influência sobre o desempenho ao alterar a temperatura a qual o animal está submetido.

Atividades como ingestão e metabolização dos alimentos são consideradas os principais mecanismos produtores de calor (CUNNINGHAM, 2004). Dessa forma, a grande atividade metabólica de bovinos leiteiros tem como consequência alta produção de calor endógeno (TITTO, 1998), tornando a sua zona de conforto térmico consideravelmente inferior à de outras espécies animais e até de outras raças.

NÄÄS (1989) definiu como uma faixa confortável de temperatura ambiental para vacas em lactação o intervalo entre 4 e 24°C, reduzindo o intervalo para 7 à 21°C em razão da umidade relativa e da radiação solar. Já HUBER (1990) cita a faixa de 4 a 26°C como a ideal para vacas holandesas. É citado também como referência de zona de

conforto térmico o intervalo entre  $-1^{\circ}\text{C}$  e  $21^{\circ}\text{C}$  (MÜLLER, 1989). O que se sabe é que a partir de  $27^{\circ}\text{C}$  os animais passam a ser submetidos ao estresse calórico.

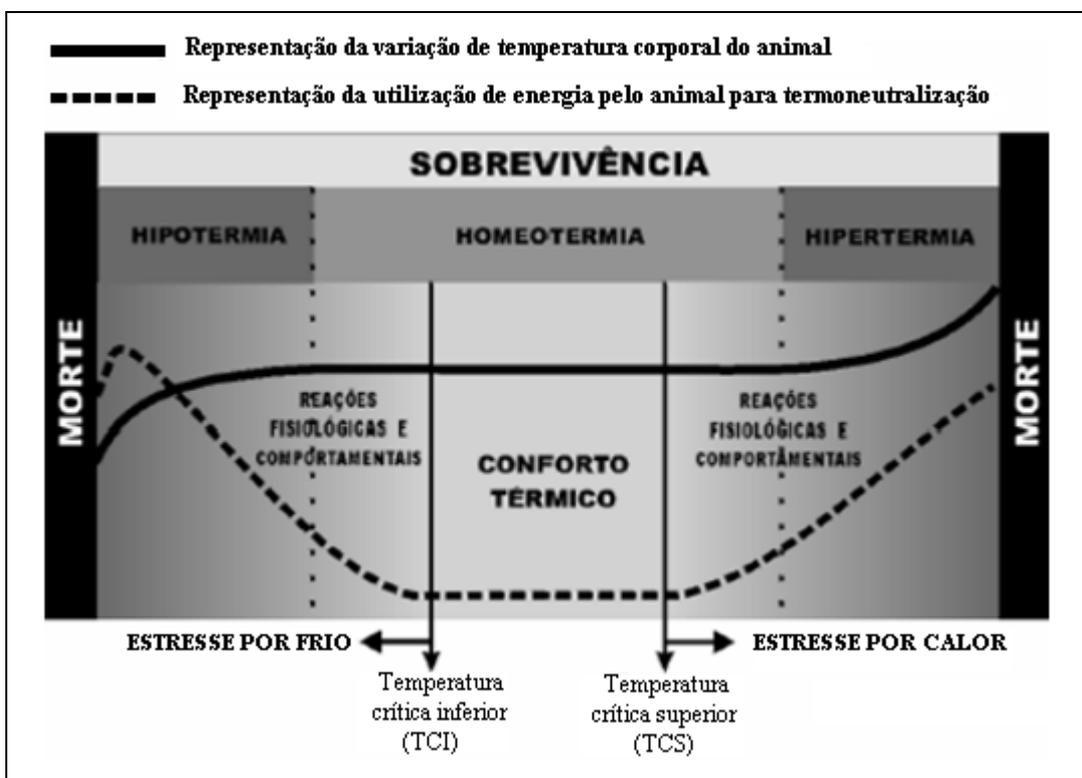


Figura 1 – Dinâmica da temperatura corporal e do gasto de energia de acordo com as zonas térmicas. Adaptado de Müller (1989).

A umidade relativa do ar tem efeito na dissipação de calor por dificultar o processo evaporativo (KATAYAMA, 2006), causando também desconforto térmico. Segundo MÜLLER (1989) a umidade relativa do ar ideal varia de 60 a 70%. Acima desse valor a dissipação térmica encontra-se bastante prejudicada, devido à saturação de vapor d'água no ar.

Acima da temperatura ambiental crítica ( $27^{\circ}\text{C}$ ), o aumento da temperatura corporal pode influenciar negativamente o desempenho, reduzindo a produção e alterando a composição do leite (ROENFELDT, 1998). Os decréscimos observados na produção de leite em vacas sob estresse pelo calor ocorrem em virtude dos efeitos diretos e indiretos envolvidos na regulação térmica, no balanço de energia e nas modificações endócrinas (MARTELLO, 2006).

O estresse refere-se ao estado do organismo no qual, após atuação de agentes ambientais de qualquer natureza, este responde com uma série de reações não específicas de adaptação, ativando mecanismos físicos e fisiológicos, na tentativa de

restabelecer a homeostase (ENCARNAÇÃO, 1997). Mas quando as condições ambientais são tão adversas que extrapolam a capacidade interna de adaptação, o organismo tem dificuldades em enfrentar esse ambiente, promovendo redução no bem-estar e na produtividade desse animal.

BACCARI (1998) descreveu que a resposta do animal a um fator estressante é dividido em três eventos principais: o reconhecimento da ameaça à homeostase ou bem estar, a resposta de estresse e as conseqüências do estresse. As respostas dos animais ao estresse térmico são fisiológicas e comportamentais, variando de espécie para espécie. A primeira resposta do animal é o aumento da atividade dos mecanismos para perda de calor (temperatura retal, frequência respiratória, temperatura do pelame), enquanto simultaneamente há redução nas funções de produção de calor (ingestão de alimentos e produção de leite) (BAÊTA e SOUZA, 1997).



Figura 2 – Animal respirando de boca aberta e salivando excessivamente, sinais característicos de estresse térmico. Fonte: Fazenda Bohrz, Ibirubá, 2011.

A produção de leite é diretamente proporcional a sensibilidade dos animais ao estresse pelo calor (DAMASCENO et al., 1998), já que os processos envolvidos na produção de leite são responsáveis por grande geração de calor. Vacas com produção de

18,5 e 31,6 Kg/dia de leite produzem 27,3 e 48,5% mais calor, respectivamente, do que vacas secas (PURWANTO et al., 1990). Dessa forma, o maior desafio para vacas de alta produção de leite, criadas em climas quentes, está em dissipar o calor produzido pelos processos metabólicos (MARTELLO, 2006).

Como consequência, um dos efeitos mais marcantes do estresse térmico passa a ser a queda da produção. É consenso entre os autores que vacas leiteiras submetidas a temperaturas acima de sua zona de conforto térmico apresentam perdas em produção consideráveis que variam de acordo com o grau de estresse e capacidade produtiva (MOHAMED e JOHNSON, 1985; OMINSKI et al., 2002; WEST et al., 2003; WHEELLOCK et al., 2010). Segundo ST-PIERRE (2003), essa queda na produção pode chegar a 35%.

ILLIUS (1998) postulou que a ingestão de alimentos é a variável mais importante no desempenho animal. Sendo assim, fatores que afetem o consumo são também diretamente responsáveis pela redução de desempenho desses animais.

Sabe-se que não existe apenas um mecanismo responsável pelo controle da ingestão de alimentos pelos bovinos sendo que BALCH e CAMPLING (1962) propuseram que "...a ingestão de alimentos provavelmente não é controlada apenas por um mecanismo... e sim através de controle do sistema nervoso central, sensações orofaríngeas, distensão e contração gástrica, mudanças na produção de calor e mudanças nos teores de metabólitos circulantes". Dessa forma o consumo de alimentos sofre influências fisiológicas múltiplas.

Além dessas influências do próprio organismo, alguns fatores externos têm efeito sobre a ingestão de matéria seca (IMS). Sendo que as condições ambientais foram citadas como causa de mudanças no consumo de alimentos (WEST et al., 2003 e PASSINI et al., 2009). Em condições de estresse térmico a redução da ingestão de matéria seca é um dos primeiros mecanismos para amenizar os efeitos do calor. Observou-se um declínio de 0,85 Kg na IMS para cada grau de temperatura ambiental a mais (WEST, 2003).

Durante o estresse térmico, o metabolismo de alguns nutrientes também sofre interferência. A proteína e a gordura são os principais nutrientes cujo metabolismo é afetado de alguma forma pelo calor. O nitrogênio uréico no leite (NUL) e o nitrogênio uréico no sangue (NUS) são os principais marcadores de metabolização da proteína (HOF et al., 1997) e seu valor está geralmente relacionado à ingestão de proteína bruta, à relação entre proteína degradável e não-degradável no rúmen e à relação proteína-

energia da dieta. Sabe-se que altos teores de nitrogênio uréico em vacas leiteiras estão relacionadas diretamente com inúmeros problemas na saúde e produção desses animais, incluindo distúrbios reprodutivos (SHINGFIELD et al., 1999) e desbalanços nutricionais (KIRCHGESSNER et al., 1986).

Estudos, como o de NOUSIAINEN et al. (2004), sugerem que o clima pode ter algum efeito sobre o conteúdo de NUL. RAJALA-SCHULTZ e SAVILLE (2003) encontraram valores mais altos de NUL durante o verão em rebanhos de baixa produção, e valores mais baixos em rebanhos de alta produção. Enquanto, SRIKANDAKUMAR e JOHNSON (2004) detectaram valores menores de NUL em vacas leiteiras submetidas à estresse térmico, e MUROYA et al. (1997) observaram valores de NUL elevados.

O aumento das necessidades de energia faz com que o animal inicie o processo de gliconeogênese mediante catabolismo da gordura corporal, lipólise (GRUMMER e CARROLL, 1991). Alguns dos principais produtos desse processo são os ácidos graxos não-esterificados (AGNE) (GRUMMER e CARROLL, 1991), que se tornam uma fonte significativa de energia para vacas em balanço energético negativo (BEN) (BAUMGARD et al., 2006). Os valores de referência para AGNE estão entre 91,3 e 294,0  $\mu\text{mol/L}$  (POGLIANI e BIRGEL JUNIOR, 2007).

O aumento da gliconeogênese durante o BEN pode causar um esgotamento das reservas de oxalacetato das mitocôndrias dos hepatócitos, o que restringe a oxidação completa dos ácidos graxos retirados dos adipócitos, causando uma grande produção de cetonas (CUNNINGHAM, 2004) e levando os animais à cetose.

São muitos os corpos cetônicos produzidos pelos animais durante o BEN, no entanto, o primeiro a surgir é o  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) (REYNOLDS et al., 1988). Quando o limite do metabolismo hepático é excedido, o AGNE é convertido inicialmente em BOHB (STUDER et al., 1993).

Portanto é necessário um BEN acentuado para que haja redução do metabolismo hepático e alteração no conteúdo de BHB plasmático. Dessa forma a mensuração da concentração de BHB demonstra a severidade do déficit energético. Seu valor de referência está entre 3,37 e 6,2 mg/dL (POGLIANI e BIRGEL JUNIOR, 2007).

Outra importante resposta do organismo ao estresse é o aumento da produção de cortisol pelas glândulas adrenais (FRASER e RUSHEN, 1987). O cortisol age no armazenamento e liberação de glicose e quando está aumentado na circulação estimula a mobilização de carboidratos, lipídeos e proteínas para produção de mais energia. O

aumento nos teores de cortisol foi descrito em vacas leiteiras submetidas à estresse térmico (WISE et al., 1988; POCCAY et al., 2001). O aumento da secreção de cortisol que ocorre em situações de estresse atua antagonicamente à insulina, causando também depressão do sistema imune (YOUSEF e JOHNSON, 1985).

Outra modificação endócrina ocasionada pelo estresse está relacionada à redução da atividade do eixo hipotálamo-hipófise-tireóide, com redução dos hormônios tireoideanos (BIANCO e KIMURA, 1999). Estudos indicaram que a glândula tireóide é sensível ao estresse térmico, pelo fato de seus hormônios estarem ligados à termogênese (MORAIS et al., 2008). SCOTT et al. (1983) relataram uma relação negativa entre a concentração plasmática de tiroxina ( $T_3$ ) e temperatura retal.

Assim como os hormônios da tireóide, a insulina também é um hormônio ligado ao metabolismo que sofre influência das condições climáticas. No entanto, há muita discrepância quanto a forma com que o calor interfere nos teores de insulina plasmáticos (DENBOW et al., 1986; ITOH et al., 1998; RÓMULO et al., 2005).

Pesquisadores observaram que a exposição ao calor causou um aumento nos teores de insulina sanguíneos (RÓMULO et al., 2005; SETTIVARI et al., 2007) em vacas lactantes. É possível que os mecanismos que limitam a secreção de insulina durante a lactação sejam removidos sob estresse térmico, como efeito da redução da ingestão de matéria seca e da produção de leite.

Situações de estresse podem estar relacionadas com o aumento da contagem de células somáticas (CCS) (WEGNER et al., 1976; MOHAMMED e JOHNSON, 1985). A relação entre o estresse térmico e a CCS é controversa entre os pesquisadores, assim como a ocorrência de mastite associada ao estresse calórico. OMINSKI et al. (2002) encontraram aumento de CCS em vacas holandesas expostas a períodos de altas temperaturas. Já PAAPE et al. (1973), não detectaram relação entre temperatura e CCS em vacas mantidas sob temperatura constante de 32°C. Quanto a ocorrência de mastite, ROMAN-PONCE et al. (1977) encontraram maior frequência de casos em animais sem acesso a sombra comparado a animais sob condições de sombreamento.

Além de alterações em sua fisiologia, os animais também desenvolvem mudanças comportamentais para resistir ao estresse causado pelo calor (CUNNINGHAM, 2004). O comportamento é determinado por fatores ambientais e genéticos, podendo ser visto como processo dinâmico e sensível às variações físicas do meio e a estímulos sociais (BANKS, 1982).

A observação das mudanças no comportamento natural é utilizada por muitos pesquisadores como indicativo de estresse térmico. As principais variáveis comportamentais estudadas, em vacas leiteiras, têm sido aquelas relacionadas às atividades de alimentação, ruminação, ócio e procura por água e sombra (CAMARGO, 1988).

A alta produção de calor resultante da metabolização dos nutrientes dietéticos faz com que o comportamento ingestivo seja fortemente afetado pelas condições ambientais (CUNNINGHAM, 2004). Como forma de reduzir a produção de calor endógeno, a atividade de ingestão é reduzida.

O padrão de procura de alimento por bovinos confinados é bem característico, com dois momentos principais: início da manhã e final da tarde. O tempo despendido diariamente nessa atividade, por vacas leiteiras estabuladas, tem sido descrito em cerca de 4 horas (CAMARGO, 1988). A frequência de ingestão de alimento varia durante o dia, devido à inúmeros fatores. Independentemente da estação do ano, a maior atividade de ingestão ocorre entre 12 e 18 horas e entre 6 e 12 horas (CAMARGO, 1988). Dados semelhantes aos detectados por LAGANÁ et al. (2005), que verificaram um consumo maior entre as 11 e as 17 horas.

A ingestão de água é outra atividade afetada pelo estresse térmico. Em um animal mantido em ambiente de conforto térmico, seu consumo de água é igual a sua perda, mas sob estresse térmico esse consumo tende a aumentar devido à maior ocorrência de reações pelo organismo para dissipar calor (COIMBRA, 2007). Descreve-se que o consumo de água ocorre com maior frequência durante o dia, principalmente no início da manhã e no final da tarde (DAMASCENO et al., 1999).

A vaca leiteira permanece em média 8 horas do dia ruminando (CAMARGO, 1988) sendo esta uma atividade essencial para a manutenção de uma atividade ruminal saudável e de um nível de produção adequado. Os estímulos da ruminação podem permitir o descanso fisiológico e a recuperação física, que em outras espécies provêm do sono profundo, uma vez que as vacas gastam bem menos tempo dormindo comparado às demais espécies (ALBRIGHT, 1987).

DAMASCENO et al. (1999) observaram maiores frequências de ruminação no intervalo das 22h às 5h, aproximadamente, com reduções significativas nos momentos de maior frequência de alimentação. LAGANÁ et al. (2005) também verificaram maior frequência de ruminação no período da noite, entre as 23 e 5 horas.

Os animais procuram a sombra e reduzem as atividades nas horas mais quentes do dia, permanecendo deitados na área de descanso (BLACKSHAW e BLACKSHAW, 1994). CAMARGO (1988) verificou que o ócio consome cerca de 10 horas diárias dos bovinos. Porém, OLIVO et al. (2005) observaram o comportamento de vacas à campo durante 20 horas diárias e descreveram tempo de ócio médio de 4 horas. Em situações de estresse térmico as vacas permanecem um tempo maior em ócio.

## **2.2. Cromo**

O cromo na nutrição humana e animal passou a ser utilizado na década de 50, após pesquisa que comprovou que este elemento participa do mecanismo de ação da insulina nas células sensíveis a este hormônio (SCHWARZ & MERTZ, 1959). Estes autores identificaram que ratos que não receberam cromo na dieta apresentaram uma baixa absorção do açúcar pelas células, enquanto que os animais do grupo que consumiram cromo trivalente demonstraram ser mais tolerantes ao açúcar.

Até hoje não se sabe exatamente como o cromo age na absorção do açúcar, acredita-se que esse mineral seja parte ativa de um fator denominado fator de tolerância à glicose (FTG) (ANDERSON e MERTZ, 1977), e que o FTG seja formado por cromo, ácido nicotínico, ácido glutâmico, glicina e cisteína (TOEPFER et al., 1977). O cromo seria o elemento mais essencial na molécula de FTG, pois na sua ausência esse fator se tornaria inativo. O FTG é identificado como um elemento que potencializa a ação da insulina nas células sensíveis a este hormônio por facilitar a ligação da insulina com os seus receptores celulares e amplificar o sinal causado por essa ligação.

O metabolismo protéico, lipídico, de carboidratos e de ácidos nucléicos pode ser sensível à suplementação de cromo (ANDERSON, 1987; MERTZ, 1992). Devido a esses possíveis efeitos, alguns experimentos foram realizados utilizando-se o cromo na suplementação alimentar para várias espécies de interesse comercial, tais como o de NETO et al. (2009) e de SOUZA et al. (2010) que observaram o efeito positivo em parâmetros de produção, em bovinos de corte, e de frangos de corte, respectivamente.

Nos estudos utilizando cromo várias fontes foram utilizadas, tais como, Cr conjugado a aminoácidos (Cr-metionina) (HAYIRLI et al., 2001), conjugado a outros minerais (cloreto de cromo) (BIZINOTO et al., 2006) e conjugado à levedura (GIOMETTI et al., 2007) todos apresentando graus variáveis de efeito, levando-se em conta as diferentes fontes e suas diferentes taxas de absorção. O cromo é pouco

absorvido pelo organismo mesmo na sua forma mais estável: a forma trivalente ( $\text{Cr}^{3+}$ ). Na forma inorgânica, o Cr trivalente, é absorvido a teores muito baixos (0,4% a 3%) (ANDERSON, 1988) enquanto em formas orgânicas a taxa de absorção chega a 10% a 25% (CHANG et al., 1994).

O Cr é armazenado no interior das células sensíveis à insulina (YAMAMOTO et al., 1989), sendo liberado durante situações de incremento no metabolismo da glicose, quando é excretado na urina, podendo levar à deficiência, como por exemplo em casos de estresse físico ou metabólico (ANDERSON, 1987).

Pesquisas demonstraram a atuação positiva do cromo em situações de estresse. Esses efeitos foram relacionados com a melhora de taxas reprodutivas em vacas em estresse térmico (ARAGON et al., 2001), ao aumento de produção em vacas de início de lactação (HAYIRLI et al., 2001), a maior taxa de postura de ovos comercializáveis em codornas submetidas à estresse térmico (DE ARAÚJO et al., 2007), a melhora da resposta imune em bovinos vacinados para tétano (FALDYNA et al., 2003) e redução dos teores de cortisol em animais submetidos à estresse térmico (VÁSQUEZ e HERRERA, 2003).

No entanto seu efeito nos parâmetros produtivos e metabólicos em vacas leiteiras submetidas à estresse térmico foi muito pouco estudado e apresenta uma marcada disparidade entre os estudos já realizados.

### **2.3. Niacina**

O interesse pela suplementação de vitaminas não-essenciais como a niacina em criações comerciais de bovinos tem aumentado nos últimos tempos, principalmente devido ao grande aumento da produtividade e às mudanças na dieta desses animais.

Grande parte da niacina ou vitamina B3 utilizada pelos ruminantes é sintetizada fisiologicamente pelos microorganismos do rúmen (CAMPBELL et al., 1994) sendo descrita uma taxa de produção de 1804 mg/d para uma vaca de aproximadamente 650 kg que produz 35 kg de leite por dia corrigido para 4% de gordura (NRC, 2001). A necessidade diária em niacina para vacas leiteiras seria de 298 mg, sendo que destes 256 mg são utilizados pelos tecidos e 33 mg são direcionados para produção de leite (NRC, 2001).

Apesar da grande síntese de niacina pelo rúmen, acima das necessidades, vários efeitos da suplementação dessa vitamina em animais de alta produção são descritos, tais como, redução de AGNE (KARKOODI e TAMIZRAD, 2009), redução de risco de cetose (DUFVA et al., 1983), aumento da síntese de proteína microbiana (LANHAM et al., 1992), de produção de propionato (RIDDELL et al., 1980) e de digestão de celulose (HORNER et al., 1988). Além disso, a niacina está relacionada também com incremento na produção de leite, principalmente no início da lactação (DRACKLEY et al., 2003).

A niacina é uma vitamina essencial para o metabolismo, por fazer parte das coenzimas nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADP) (NIEHOFF et al., 2009), podendo ser fornecida na forma de niacina, ácido nicotínico ou nicotinamida, sendo a nicotinamida a forma ativa. Os nucleotídeos NAD e NADP sofrem oxidação e redução em muitas reações metabólicas de transferência de elétrons tendo a função de conservar a energia livre produzida pela oxidação dos substratos. A coenzima NAD está relacionada à produção de energia mediante reações catabólicas, tais como a degradação de carboidratos, gorduras e proteínas, enquanto a NADP é relacionada à reações anabólicas, tais como a síntese de macromoléculas celulares incluindo ácidos graxos e colesterol (BOGAN e BRENNER, 2008)

A niacina é um elemento que tem efeito na perda de calor por causar vasodilatação na pele e aumentar a perda de calor periférica (DI CONSTANZO et al., 1997), através da produção aumentada de prostaglandina D pelas células de Langherhans epidérmicas (BENYO et al., 2006; MACIEJEWSKI et al., 2006) e de receptores endoteliais para prostaglandina D2 (CHENG et al., 2006).

Estudos sobre esses efeitos já foram realizados em vacas de leite (DI COSTANZO et al., 1997; MULLER et al., 1986; ZIMBELMAN et al., 2010), no entanto o efeito da niacina suplementada sobre produção e parâmetros metabólicos apresentam uma grande disparidade de resultados entre os autores. Quanto aos parâmetros hormonais, a maioria dos estudos referem-se apenas ao efeito da niacina em animais sob condições térmicas não informadas (DUFVA et al., 1983; CHILLIARD e OTTOU, 1995) não havendo, portanto, dados sobre o efeito da niacina nesses parâmetros em animais sob estresse térmico.

Raros são os estudos utilizando niacina protegida na suplementação de vacas leiteiras submetidas à estresse térmico, no entanto ZIMBELMAN et al. (2010), obtiveram resultados satisfatórios do uso de niacina revestida com lipídio quanto a

dissipação de calor. Em vacas no início da lactação, não submetidas à estresse térmico a niacina protegida reduziu os valores de AGNE e BHB (MOREY et al., 2011). A proteção lipídica utilizada impede que a niacina seja liberada no rúmen, tornando-a mais disponível para absorção a nível intestinal e potencializando sua ação sistêmica.

O ácido nicotínico e o cromo inorgânico em conjunto já foram testados em algumas espécies, como por exemplo, bovinos de corte estressados, com efeitos positivos na imunidade dos animais (CHANG et al. 1995). Em ratos, o uso na niacina e do cromo em conjunto reduziram os teores de uréia, creatinina (INCELI et al. 2007), colesterol e lipídios totais (BOLKENT et al., 2004). Apesar de apresentarem resultados positivos em outras espécies não existem estudos utilizando niacina protegida e cromo-levedura em vacas leiteiras, bem como não há estudo no Brasil com o uso da niacina protegida em bovinos de leite submetidos a estresse térmico.

## CAPÍTULO 2

### MANUSCRITO

Os resultados desta dissertação são apresentados na forma de manuscrito, com sua formatação de acordo com as normas da revista ao qual será submetido:

Arquivos de Medicina Veterinária e Zootecnia

**Efeito da niacina protegida e do cromo em vacas leiteiras submetidas à estresse térmico**

**Effect of protected niacin and chromium in dairy cows subjected to heat stress**

**A. R. Aires<sup>‡\*</sup>, M. P. Milani<sup>†</sup>, D. Zeni<sup>‡</sup>, T. H. Grandó<sup>‡</sup>, F. Costabeber<sup>‡</sup>, J. L. Nörnberg<sup>†</sup>, M. L. R. Leal<sup>‡</sup>.**

<sup>‡</sup> Departamento de Clínica de Grandes Animais, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM); <sup>†</sup> Departamento de **Tecnologia em Alimentos**, UFSM; e <sup>‡</sup> Departamento de Nutrição, UFSM. \* **Autor para correspondência:** [adelina\\_ravet@yahoo.com.br](mailto:adelina_ravet@yahoo.com.br). Departamento de Clínica de Grandes Animais, Hospital Veterinário, prédio 97, UFSM, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil, 97105-900.

## RESUMO

Para avaliar o efeito da niacina protegida e da levedura rica em cromo sobre a performance de animais sob estresse térmico, foram utilizadas 46 vacas em lactação, distribuídas em 4 grupos: niacina (GN), cromo (GCr), niacina+cromo (GNCr) e controle (GC). O sangue foi coletado nos dias zero, 12, 26 e 37 para determinação de ácidos graxos não esterificados (AGNE),  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB), glicose, colesterol, insulina, cortisol, tetraiodotironina ( $T_4$ ) e triiodotironina ( $T_3$ ). A temperatura superficial (TS) foi mensurada a cada três dias. A produção de leite foi pesada diariamente. Nos dias zero, 7, 28 e 35 amostras de leite foram coletadas para contagem de células somáticas (CCS) e para determinação de nitrogênio uréico no leite (NUL). Não houve efeito dos tratamentos sobre TS, cortisol, insulina,  $T_4$ , glicose e AGNE. Valores mais elevados na produção de leite foram detectados no GNGr em relação ao GN e GCr. A CCS foi menor nos grupos tratados com niacina, enquanto que o NUL foi superior nestes grupos. Maiores e menores valores de colesterol foram detectados, respectivamente, nos animais do GNCr e GN. O BHB foi maior no grupo tratado com niacina em relação ao grupo cromo. Os animais do GNCr e GN permaneceram mais tempo deitados durante o período mais quente do dia (13 às 18 h). No intervalo das 19 às 24 h, os animais que receberam niacina ingeriram mais água e os que receberam cromo apresentaram maior atividade de ruminação. O uso de cromo-levedura e niacina protegida aumenta a produção, em relação ao seu uso isolado, tendo efeitos também na redução dos teores de células somáticas em vacas submetidas à estresse térmico.

**Palavras-chave:** cromo, estresse térmico, niacina protegida, perfil metabólico, vacas leiteiras.

## ABSTRACT

To evaluate the effect of niacin protected and chromium-rich yeast on the performance of animals under heat stress, we used 46 milking cows, divided into 4 groups: niacin (GN), chromium (GCR), niacin + chromium (GNCr) and control (CG). Blood was collected on days zero, 12, 26 and 37 for determination of nonesterified fatty acids (NEFA),  $\beta$ -hydroxybutyrate (BHB), glucose, cholesterol, insulin, cortisol, tetraiodothyronine ( $T_4$ ) and triiodothyronine ( $T_3$ ). The surface temperature (TS) was measured every three days. The milk was weighed daily. On days zero, 7, 28 and 35 milk samples were collected for somatic cell count (SCC) and for determination of milk

urea nitrogen (MUN). There was no treatment effect on TS, cortisol, insulin, T4, glucose and NEFA. Values higher milk production was detected in GNGr relation to the GN and GCR. SCC was lower in groups treated with niacin, while NUL was higher in these groups. Highest and lowest cholesterol levels were detected, respectively, in animals of GNCr and GN. The BHB was higher in the group treated with niacin group compared to chromium. The animals GN and GNCr remained more time lying down during the hottest time of day (13 to 18 h). In the interval from 19 to 24 h, the animals that received niacin ingested more water and those who received chromium had higher rumination activity. The use of chromium-protected yeast and niacin production increases, compared to its individual use, and also effects the reduction of levels of somatic cells in cows submitted to thermal stress.

**Keywords:** chrome, heat stress, niacin protected, metabolic profile, milk cows.

## INTRODUÇÃO

Temperaturas elevadas combinadas com alta umidade do ar são fatores que interferem na produtividade e no bem-estar de vacas leiteiras. Um dos principais efeitos do estresse causado pelas condições climáticas é a redução da produção de leite. Nos Estados Unidos essa redução pode chegar até a 35% (St Pierre, 2003). Mesmo em situações de estresse térmico mais ameno a queda na produção pode ser considerável, chegando até a 8,3% (Ominski et al., 2002).

A niacina é uma vitamina hidrossolúvel que atua diretamente no metabolismo de carboidratos, lipídios e aminoácidos (NRC, 2001). Vários efeitos da suplementação com niacina são descritos, tais como redução de ácidos graxos não esterificados (AGNE) (Karkoodi e Tamizrad, 2009), redução de risco de cetose (Dufva et al., 1983) e incremento na produção de leite, principalmente no início da lactação (Yanxia et al., 2008). A niacina causa vasodilatação superficial e aumenta a perda de calor periférica (Di Constanzo et al., 1997), mediante maior produção de prostaglandina D pelas células de Langherhans epidérmicas (Benyo et al., 2006) e de receptores endoteliais para prostaglandina D2 (Cheng et al., 2006).

O Cromo (Cr) é um micro-mineral essencial na absorção de açúcar (Schwarz e Mertz, 1959). Acredita-se que o Cr seja parte ativa do fator de tolerância à glicose (FTG) (Anderson e Mertz, 1977), que potencializa a ação da insulina, facilitando sua ligação aos receptores celulares e amplificando seu sinal. O metabolismo protéico,

lipídico e de carboidratos são sensíveis à suplementação de Cr (Anderson, 1987; Mertz, 1992).

O uso da niacina e do Cr, utilizados separadamente, em situações de estresse térmico, apresentou resultados positivos em alguns estudos (Di Costanzo et al., 1997; Aragón et al., 2001; Zimbelman et al., 2010). No entanto, não existem pesquisas sobre o efeito da associação da niacina protegida com cromo levedura na performance e comportamento de vacas leiteiras submetidas a estresse térmico, sendo estes os objetivos deste estudo.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em propriedade leiteira na região noroeste do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, entre os dias 2 de fevereiro a 11 de março de 2011. Foram utilizadas 46 vacas da raça holandesa, com média de 207 dias em lactação e uma produção média de 23,4 litros de leite/dia, criadas em sistema free-stall. Os animais receberam a dieta formulada na propriedade, à base de silagem de milho, feno de tifton, farelo de soja, farelo de milho, cevada em grão, aveia em grão e mistura mineral comercial (Tabela 1). Eram fornecidos 41 Kg MS/vaca através de sistema de mistura total, três vezes ao dia.

Os animais foram divididos em quatro grupos mediante amostragem de blocos ao acaso, conforme os dias em lactação, nos diferentes tratamentos. Os grupos tratados foram: niacina (GN, n = 12), 12g de niacina protegida (BALCHEM, New Hampton, New York) por animal; cromo (GCr, n=11), 20 g de levedura *Sacharomices cerevisae* rica em cromo (0,5 mg de cromo/Kg de MS) (ALLTECH, Brasil, contendo 1g Cr/Kg) por animal; niacina + cromo (GNCr, n=12), 12g de niacina protegida + 20g de levedura *Sacharomices cerevisae* rica em cromo (0,5 mg de cromo/Kg de MS), por animal; e controle (GC, n=11) sem suplementação. Todos os tratamentos foram fornecidos, diariamente, misturado à 100 g de farelo de soja, individualmente, conforme grupo experimental, após a ordenha da manhã. O grupo controle recebeu apenas farelo de soja.

Os dados ambientais: temperatura de bulbo seco (TBS), temperatura de bulbo úmido (TBU) e temperatura de globo negro (TGN), foram obtidos utilizando-se termômetro de globo negro (modelo TGD-200, INSTRUTHERM), instalado no centro geométrico da instalação a uma altura de 1,30m do piso. A mensuração foi feita diariamente, às 7, 10, 13, 16 e 19 horas. O índice de temperatura e umidade (ITU) foi calculado pela fórmula:  $ITU = TBS + 0,36TBU + 41,2$  (Thom, 1959).

A temperatura de superfície de pelame (TSP) foi mensurada, em todos os animais, a cada três dias às 13 horas, utilizando-se termômetro infravermelho (TI-890, INSTRUTHERM). Essa mensuração foi realizada na região da escápula nas áreas de pelagem preta e branca. As vacas foram ordenhadas três vezes ao dia (4, 10 e às 17 horas) e a produção computada diariamente, através de sistema automático de pesagem do leite. Nos dias zero, 7, 28 e 35 amostras de leite foram coletadas para contagem de células somáticas (CCS), através de citometria de fluxo, e para determinação de nitrogênio uréico no leite (NUL), por método de infravermelho.

Foram coletados 20 ml de sangue através de punção da veia ou artéria coccídea utilizando-se o sistema de coleta à vácuo, nos dias zero, 12, 26 e 37 para obtenção de soro. O sangue foi centrifugado por 10 minutos em 5000 x g e após a separação, o soro foi congelado até a análise. As dosagens de AGNE e de  $\beta$ - hidroxibutirato (BHB) foram realizadas por kit comercial (NEFA, FA 115, RANDOX, Inglaterra e RANBUT – RB 1007, RANDOX, Inglaterra), através da técnica de McMurray et al. (1984).

Os teores de colesterol e glicose foram determinados por método colorimétrico, através de kit comercial (COLESTEROL LIQUIFORM – LABTEST, Brasil e GLICOSE PAP LIQUIFORM – LABTEST, Brasil). Insulina, tetraiodotironina ( $T_4$ ), triiodotironina ( $T_3$ ) e cortisol foram dosados por radioimunoensaio mediante metodologia preconizada por Yalow e Berson (1960), Ratcliff et al. (1974) e Ruder et al. (1972).

Os comportamentos de ingestão de água e alimento, de ruminação e de ócio foram monitorados durante 24 h, semanalmente, não coincidindo com a coleta de dados fisiológicos e de sangue. A frequência de ingestão de alimento, de ruminação e de ócio foi anotada a cada 30 min, enquanto a ingestão de água foi computada continuamente durante as 24 h de observação (Damasceno, 1999). Os animais foram identificados conforme o grupo e as anotações foram feitas em planilhas com distinção de intervalos de horário, para identificação dos intervalos de maior e menor intensidade de atividades. Os intervalos utilizados foram: 12-18, 19-24, 01-06, 07-12 horas.

O experimento foi conduzido após aprovação do Comitê de Ética em Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Maria. Os dados foram testados quanto à normalidade utilizando-se o teste de Kolmogorov-Smirnov. O efeito dos diferentes tratamentos sobre os parâmetros sanguíneos, hormonais, TSP, comportamento e produção de leite foram submetidos à ANOVA (one-way). A comparação entre as

médias foi realizada pelo Teste de Tukey com 5% de significância. Os dados foram analisados pelo programa estatístico SPSS Statistic 19.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em 66,7 % das mensurações feitas, o ITU manteve-se acima de 72, valor considerado determinante para ocorrência de estresse térmico para vacas leiteiras de origem européia (Johnson, 1980). Os horários mais quentes foram às 13h e 16h. O estresse térmico ocorrido no período foi de moderado a severo, conforme a classificação do ITU.

A TSP dos animais não variou entre os grupos ( $P > 0,05$ ) (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Zimbelman et al. (2010). No entanto, Di Constanzo et al. (1997) observaram uma redução na TS corporal utilizando niacina não protegida. Segundo esses autores essa redução está relacionada à melhor transferência de calor entre o animal e o ambiente ocasionada pela niacina. É possível que a niacina protegida não possua o mesmo efeito das fontes não protegidas sobre a TS, já que no único trabalho realizado com niacina protegida, não houve efeito positivo nesse parâmetro (Zimbelman et al., 2010).

Sob situações de aumento da exigência energética a mobilização de gordura corporal, com subsequente formação de AGNE, se torna a maior fonte de energia para animais de alta produção e em balanço energético negativo (BEN) (Baumgard et al., 2006). Quando o BEN é prolongado os AGNE são convertidos inicialmente em BHB (Studer et al., 1993), sendo este, indicativo da severidade do desbalanço energético.

Durante o experimento, os teores de AGNE não diferiram entre os grupos ( $P > 0,05$ ) (Tabela 1). No entanto, os teores de AGNE obtidos foram inferiores aos considerados fisiológicos para vacas de alta produção (Pogliani e Birgel Junior, 2007). Levando-se em consideração que a média de produção de leite deste rebanho foi de 23,4 L, durante o período, pode-se dizer que os animais deste estudo são de produção média, com uma menor exigência energética e, conseqüente, menor catabolismo lipídico. Além disso, o aumento dos teores de AGNE, não é tão acentuado durante o estresse térmico (Wheelock et al., 2010). A metabolização de gordura é uma grande fonte de calor endógeno, sendo assim o organismo do animal suprime esse mecanismo em situações de estresse térmico, utilizando outros caminhos, ainda não totalmente elucidados, para obter energia com baixa produção de calor durante períodos de alta temperatura (Wheelock et al., 2010).

O BHB apresentou valores menores no GCr em relação ao GN ( $P < 0,05$ ). O Cr-metionina também reduziu os teores de BHB em bezerros desmamados durante o verão (Yari et al., 2010). Menores valores de BHB foram detectados em vacas em lactação suplementadas com cromo-animoácido (Yang et al., 1996). Os baixos teores de BHB encontrados em animais suplementados com Cr se devem, possivelmente, ao maior uso periférico desse metabólito ocasionado pelo aumento da estimulação pela insulina, descrito em animais suplementados com cromo.

Skaar et al. (1989) também não observaram diferença nas concentrações de AGNE e BHB, entre animais suplementados ou não com niacina na sua forma não protegida no pré e pós-parto, durante o verão. No entanto, em vacas não submetidas à estresse térmico a niacina reduziu os teores de AGNE e BHB (Karkoodi e Tamizrad, 2009). A resposta positiva da niacina na redução de AGNE e BHB apenas em vacas mantidas em condições climáticas amenas pode estar relacionada à baixa produção desses metabólitos em vacas mantidas em estresse térmico (Wheelock et al., 2010).

Os tratamentos não causaram efeito nos teores de glicose ( $P > 0,05$ ). Dufva et al. (1983) suplementaram com niacina vacas leiteiras, não submetidas à estresse térmico, e também não observaram efeito dessa vitamina nos teores desse metabólito. No entanto, vacas em estresse térmico que receberam maiores quantidades de niacina não protegida (14 g) exibiram aumento na glicose plasmática (Karkoodi e Tamizrad, 2009).

Quanto ao uso de Cr, An-Qiang et al. (2009), observaram um aumento dos teores de glicose em vacas submetidas à estresse, o que não ocorreu no presente estudo. Em novilhos suplementados com niacina associada ao cromo inorgânico e submetidos a estresse por aglomeração os teores de glicose permaneceram inalterados (Chang et al., 1995).

Pechová et al (2002) detectaram menores concentrações de colesterol no pós parto em vacas suplementadas com Cr. Nesse estudo, os teores de colesterol também foram menores nos animais que receberam cromo, quando comparados aos grupos GN e GNCr ( $P < 0,05$ ) (Tabela 3). Menores valores de colesterol podem está relacionados ao aumento da atividade da insulina relatada em animais suplementados com Cr (Anderson, 1994). O uso da niacina associada ao cromo aumentou os teores de colesterol em relação ao grupo controle ( $P < 0,05$ ). Em vacas no terço médio de lactação, submetidas à estresse térmico e tratadas com Cr-ácido nicotínico, Al-Saiady et al. (2004) também obtiveram valores elevados do colesterol em relação ao grupo sem tratamento.

Os tratamentos não influenciaram os teores insulina ( $P>0,05$ ) (Tabela 1). Em estudos relacionados à suplementação de cromo quelatado em vacas leiteiras, em estresse térmico (An-Qiang et al., 2009) e no pré-parto (Morey et al., 2011) também não houveram mudanças nas concentrações de insulina.

Os teores de cortisol foram inferiores aos descritos por Correa-Calderon et al. (2004), em vacas submetidas a estresse térmico e não sofreram influência dos tratamentos ( $P>0,05$ ) (Tabela 1). Em vacas de corte suplementadas com Cr-levadura observou-se menores valores de cortisol em comparação às vacas controle (Aragón et al., 2001), no entanto estes animais foram submetidos a um estresse térmico mais severo do que o experimentado pelos animais do presente estudo.

Os baixos teores de cortisol podem estar relacionados às variações do ITU. Durante a noite (22h a 7h), no período experimental, este índice apresentou uma média de 68,6, considerado não estressante para vacas leiteiras (Johnson, 1980). O cortisol é um hormônio de permanência muito curta na corrente sanguínea, sendo assim, a retirada do agente estressante por um curto período de tempo já permite que seus níveis voltem praticamente às concentrações normais (Cunningham, 2004). Levando-se em consideração que a coleta de sangue foi realizada pela manhã, esses animais teriam teores baixos de cortisol nesse momento, em decorrência da recuperação ocorrida durante a noite.

A glândula tireóide é a mais importante glândula endócrina para a regulação metabólica. Os hormônios  $T_4$  e  $T_3$  são armazenados dentro da tireóide e liberados conforme a necessidade, no entanto, grande parte do  $T_4$  é transformado em  $T_3$  fora da tireóide, sendo esta última a forma ativa do hormônio (Cunningham, 2004). O  $T_3$  age nas células aumentando seu metabolismo basal e o consumo de oxigênio dos tecidos, com conseqüente incremento da produção de calor. A glândula tireóide é sensível ao estresse térmico, pelo fato de seus hormônios estarem ligados ao mecanismo de termogênese (Morais et al., 2008). No presente estudo os teores de  $T_4$  não foram alterados pelos tratamentos ( $P>0,05$ ) (Tabela 1). Entretanto os animais que receberam niacina apresentaram valores maiores de  $T_3$  em comparação aos animais suplementados com cromo ( $P<0,05$ ). Não há trabalhos que descrevam os efeitos da niacina sobre o  $T_3$ .

O uso da niacina associada ao cromo aumentou a produção de leite ( $P<0,05$ ), quando comparado com os GN e GCr (Tabela 1). A produção de leite do GNCr permaneceu acima da média dos demais grupos em praticamente todo o período experimental (Figura 1). Observou-se um aumento de cerca de 20% na média de

produção no GN<sub>Cr</sub> em relação aos grupos N e Cr ( $P < 0,05$ ). Já em relação ao grupo controle, o GN<sub>Cr</sub> produziu 5% (1.26kg) mais leite, apesar desse efeito não ter sido significativo ( $P > 0,05$ ).

Não existem na literatura trabalhos que descrevam o uso concomitante de niacina protegida e cromo orgânico como suplementos para vacas leiteiras submetidas a estresse térmico. Sabe-se apenas que o nicotinato de Cr ( $\text{Cr}^{+3}$  + ácido nicotínico) proporcionou um incremento de 12,02% na produção de vacas durante o verão (Xin-Jian et al., 2006). Yuan et al. (2011) e Zimbelman et al. (2010), utilizando apenas niacina protegida, durante o verão, também não observaram diferença na produção de leite.

Acredita-se que a niacina, além de ser anti-lipolítico, tenha efeito gliconeogênico (Di Constanzo et al., 1997). O ácido nicotínico também faz parte da molécula do FTG, assim como cromo, ácido glutâmico, glicina e cisteína. Portanto um incremento na produção de leite em animais suplementados com niacina+cromo pode estar associado à atividade do FTG na potencialização da insulina e em um maior aporte de glicose para a glândula mamária.

Os tratamentos com niacina e niacina+cromo reduziram a CCS ( $P < 0,05$ ) (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Zimbelman et al (2010) em vacas leiteiras em estresse térmico e suplementadas com niacina protegida. Em estudos utilizando ratos, o uso do cromo mais niacina tiveram efeito positivo contra a oxidação celular em rins de ratos hiperlipêmicos, mediante aumento de glutathione peroxidase e redução da peroxidação lipídica celular (Inceli et al., 2007). Este efeito também pode estar presente na glândula mamária de vacas submetidas à estresse térmico, reduzindo a lesão celular e a suscetibilidade à infecções.

O nitrogênio uréico no sangue (NUS) é um parâmetro interessante para avaliação dos teores de N metabolizados pelo organismo do animal e do balanço entre ingestão e utilização da proteína. Sabe-se que altos teores de NUS em vacas leiteiras tem relação direta com inúmeros problemas na saúde e produção desses animais, incluindo distúrbios reprodutivos (Shingfield et al., 1999) e desbalanços nutricionais (Kirchgessner et al., 1986). A uréia é um composto que atravessa membranas muito facilmente, dessa forma, estabelece equilíbrio da sua concentração de forma rápida entre os fluidos corporais, incluindo o leite. Sendo assim há uma relação estreita entre o NUS e o NUL (Hof et al., 1997).

No GN e GNCr o valor de NUL foi menor ( $P<0,05$ ) ao observado no GCr e GC (Tabela 1). Assim como Vasquez e Herrera (2003) que não encontraram efeito da levedura rica em cromo nos teores de uréia em vacas de corte durante o verão.

A maior concentração de NUL ocorreu no GNCr, coincidindo com maior produção de leite apresentada pelo mesmo grupo. Dessa forma é possível que o valor de NUL encontrado para os animais suplementados com niacina e Cr, seja efeito direto da maior produção e, conseqüente, maior necessidade de fontes alternativas de energia, além da mobilização de gordura.

Os animais que receberam niacina, associada ou não ao cromo, permaneceram mais tempo deitados durante o intervalo das 13 às 18 h ( $p=0,007$ ) em comparação aos animais do grupo controle (Figura 1). Durante o experimento, este intervalo correspondeu ao período mais quente do dia, sugerindo que a niacina, nessa situação, possibilitou um maior conforto aos animais, já que em situações de estresse térmico, os animais permanecem mais tempo em pé neste período. Quando a niacina na forma não protegida foi administrada a vacas sob altas temperaturas não houve diferença no comportamento de descanso (Nai-de et al., 2010). Os animais que receberam niacina ingeriram mais água em comparação ao grupo controle ( $p=0,049$ ), no intervalo das 19 às 24 h (Figura 1), resultado também não encontrado por Nai-de et al. (2010). Neste mesmo intervalo de horário o grupo GCr apresentou maior atividade de ruminação em comparação aos demais grupos ( $p=0,0005$ ) (Figura 1).

O uso da niacina associada ou não ao cromo em vacas leiteiras em estresse térmico de moderado a severo, promove um incremento de 1,26 L na produção de leite, melhora a saúde da glândula mamária e permite um maior conforto animal.

## REFERÊNCIAS

- AL-SAIADY, M. Y., M. A. AL-SHAIKHB, S. I. AL-MUFARREJ, T. A. AL-SHOWEIMI, H. H. MOGAWER E A. DIRRAR. Effect of chelated chromium supplementation on lactation performance and blood parameters of Holstein cows under heat stress. **Anim. Feed Sci. Tech.** v. 117, p. 223–233, 2004.
- ANDERSON, R. Chromium. In.: **Trace Elements in Human and Animal Nutrition**. E. Mertz. Academic Press. New York, p. 225, 1987.
- ANDERSON, R. A. Stress effects on chromium nutrition of humans and farm animals. In: **Biotechnology in the feed industry**, Proceedings of Alltech's 10th Annual

Symposium, Lyons P., Jacques K. A. (eds). Nottingham University Press: 267-274, 1994.

ANDERSON, R. e A. W. MERTZ. Glucose tolerance factor: an essential dietary agent. **Trends Biochem. Sci.** v. 2, p. 277–284, 1977.

AN-QIANG, L., W. ZHI-SHENG e Z. AN-GUO. Effect of chromium picolinate supplementation on early lactation performance, rectal temperatures, respiration rates and plasma biochemical response of holstein cows under heat stress. *Pakistan J. Nutr.* 8 (7): 940-945, 2009.

ARAGÓN, V. E. F., D. S. GRAÇA, A. L. NORTE, G. S. SANTIAGO e O. J. PAULA. Suplementação com cromo e desempenho reprodutivo de vacas zebu primíparas mantidas a pasto. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v. 53, Suppl. 5, p. 624-628, 2001.

BAUMGARD, L.H., J.B. WHEELOCK, G. SHWARTZ, M.O. BRIEN, M.J. VANBAALE e R.J. COLLIER. Effects of heat stress on nutritional requirements of lactating dairy cattle. **Anais...** 5<sup>a</sup> Annual Arizona Dairy Production Conference, Tempe. p. 8-17, 2006.

BELIBASAKIS, N.G. e D. TSIRGOGIANNI. Effects of niacin on milk yield, milk composition, and blood components of dairy cows in hot weather. **Anim. Feed Sci. Tech.** v. 64, n. 53-59, 1996.

BENYO, Z., A. GILLE, C. L. BENNETT, B. E. CLAUSEN e S. OFFERMANN. Nicotinic acid induced flushing is mediated by activation of epidermal langerhans cells. **Mol. Pharmacol.** v. 70, Suppl. 6, p. 1844-1849, 2006.

BOLKENT, S., R. YANARDAG, S. BOLKENT e M. M. DÖGER. Beneficial effects of combined treatment with niacin and chromium on the liver of hyperlipemic rats. **Biol Trace Elem Res**, v. 101, p. 219-229, 2004.

CHANG, X. D. N. MOWAT e B. A. MALLARD. Supplemental chromium and niacin for stressed feeder calves. **Can. J. Anim. Sci.** v. 75, p. 351-358, 1995.

CHENG, K., T. WU, K. K. WU, C. STURINO, K. METTERS, K. GOTTESDIENER, S. D. WRIGHT, Z. WANG, G. O'NEILL, E. LAI e M. G. WATERS. Antagonism of the prostaglandin d2 receptor 1 suppresses nicotinic acid-induced vasodilation in mice and humans. **PNAS.** v. 103, p. 6682-6687, 2006.

CORREA-CALDERON, A., D. ARMSTRONG, D. RAY, S. DENISE, M. ENNS e C. HOWISON. Thermoregulatory responses of Holstein and Brown Swiss heat-Stressed dairy cows to two different cooling systems. **Int. J. Biometeorol.** v. 48, 142–148, 2004.

CUNNINGHAM, J.G. Tratado de fisiologia veterinária. 3ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2004. 579p.

DAMASCENO, J., C. F. BACCARI JR. e L. A. TARGA. Respostas comportamentais de vacas holandesas, com acesso à sombra constante ou limitada. **Pesq. Agropec. Bras.** v. 34, Suppl. 4, p. 709-715, 1999.

DI COSTANZO, A., J. N. SPAIN e D. E. SPIERS. Supplementation of nicotinic acid for lactating holstein cows under heat stress conditions. **J. Dairy sci.** v. 80, p.1200–1206, 1997.

DUFVA, G. S., E. E. BARTLEY, A. D. DAYTON e D. O. RIDDELL. Effect of niacin supplementation on milk production and ketosis of dairy cattle. **J. Dairy sci.** v. 66, p. 2329-2336, 1983.

HAYIRLI, A., D. R. BREMMER, S. J. BERTICS, M. T. SOCHA, e R. R. GRUMMER. Effect of chromium supplementation on production and metabolic parameters in periparturient dairy cows. **J. Dairy Sci.** 84:1218–1230, 2001.

HOF, G., M. D. VERVOORN, P. J. LENAERS e S. TAMMINGA. Milk urea nitrogen as a tool to monitor the protein nutrition of dairy cows. **J. Dairy Sci.** v. 80, p. 3333-3340, 1997.

INCELI, M. S., S. BOLKENT, M. M. DOGER, E R. YANARDAG. The effects of combined treatment with niacin and chromium on the renal tissues of hyperlipidemic rats. **Mol. Cell. Biochem.** v. 294, p. 37-44, 2007.

JOHNSON, H. D. Environmental management of cattle to minimize the stress of climatic change. **Internat. J. Biometeorol.** v. 24, n. 1, p. 65-78, 1980.

KARKOODI, K. e K. TAMIZRAD. Effect of niacin supplementation on performance and blood parameters of Holstein cows. **S. Afr. J. Anim. Sci.** v. 39, Suppl. 4, p. 349-354, 2009.

KIRCHGESSNER, M., M. KREUZER e D. A. ROTH-MAIER. Milk urea and protein content to diagnose energy and protein malnutrition of dairy cows. **Arch. Anim. Nutr.** v. 36, p. 192–197, 1986.

MCMURRAY C. H., W. J. BLANCHFLOWER e D. A. RICE. Automated kinetic method for d-3-hydroxybutirate in plasma or serum. **Clin. Chem.** v. 30, p. 421-425, 1984.

MERTZ, W. Chromium history and nutritional importance. **Biol. Trace. Elem. Res.** v. 32, p. 3-8, 1992.

- MORAIS, D.E.F., A. S. C. MAIA, R. G. DA SILVA, A. M. VASCONCELOS, P. O. LIMA e M. M. GUILHERMINO. Variação anual de hormônios tireoideanos e características termorreguladoras de vacas leiteiras em ambiente quente. **R. Bras. Zootec.** v. 37, n. 3, p. 538-545, 2008.
- MOREY, S. D., L. K. MAMEDOVA, D. E. ANDERSON, C. K. ARMENDARIZ, E. C. TITGEMEYER e B. J. BRADFORD. Effects of encapsulated niacin on metabolism and production of periparturient dairy cows. **J. Dairy Sci.** v. 94 n. 10, p. 5090-5104, 2011.
- NAI-DE, Y., G. ZHEN-HUA, H. XIAO-LIANG e Y. FU-QUAN. Influence of Supplemental Niacin on Performancer and Ion Chroma of Serum for Dairy Cows in the Condition of Heat-stressed. **China Anim. Husb. Vet. Medic.** v. 7, 2010. (Abstract)
- NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle.** 7.ed. Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 2001. 381p.
- OMINSKI, K. H., A. D. KENNEDY, K. M. WITTENBERG e S. A. MOSHTAGHI NIA. Physiological and production responses to feeding schedule in lactating dairy cows exposed to short-term, moderate heat stress. **J. Dairy Sci.** v. 85, p. 730–737, 2002.
- PECHOVÁ, A., A. PODHORSK, E. LOKAJOVA, L. PAVLATA e J. ILLEK. Metabolic effects of chromium supplementation in dairy cows in the peripartal period. **Acta Vet. Brno.** v. 71 p. 9–18, 2002.
- POGLIANI, F. C. e E. BIRGEL JUNIOR. Valores de referência do lipidograma de bovinos da raça holandesa, criados no Estado de São Paulo **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** p. 44, n. 5, p. 373-383, 2007.
- RATCLIFF, W. A., J. G. RATCLIFFE, A. D. MCBRIDE, W. A. HARLAND e T. W. RANDALL. The radioimmunoassay of thyroxine in unextracted human serum. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 3, p. 481-488, 1974.
- RUDER, H. J., R. GUY e M. B. LIPSETT. A Radioimmunoassay for Cortisol in Plasma and Urine. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 35, n. 2, p. 219-224, 1972.
- SCHWARTZ, K. e W. MERTZ. Chromium (iii) and the glucose tolerance factor. **Arch. Biochem. Biophys.** v. 85, p. 292-295, 1959.
- SHINGFIELD, K.J., M. JOKELA, K. KAUSTELL, P. HUHTANEN e J. NOUSIAINEN. Association between protein feeding and reproductive efficiency in the dairy cow: specific emphasis on protein feeding in Finland. **Agric. Food Sci. Finl.** v. 8, p. 365–392, 1999.

- SKAAR, T. C., R. R. GRUMMER, M. R. DENTINE e R. H. STAUFFACHER. Seasonal effects of prepartum and postpartum fat and niacin feeding on lactation performance and lipid metabolism. **J. Dairy Sci.** v. 72, p. 2028-2038, 1989.
- STEPHENSON, L.A. e M.A. KOLKA. Cardiovascular and thermoregulatory effects of niacin. Army Research Inst. of Environmental Medicine, Natick, MA., 1989.
- ST PIERRE, N. R., B. COBANOV e G. SCHNITKEY. Economic losses from heat stress by US livestock industries. **J. Dairy Sci.** v. 86, Suppl. E, p. 52-77, 2003.
- STUDER, V.A. R.R. GRUMMER, S.J. BERTICS e C.K. REYNOLDS. Effect of prepartum propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. **J. Dairy Sci.** v. 76, n. 10, p. 2931-2939, 1993.
- THOM, E. C. **The discomfort index.** Weatherwise, Washington. v. 12, p. 57-59, 1959.
- TOEPFER, E.W., W. MERTZ, M. M. POLANSKY, E. E. ROGINSKI e W. R. WOLF. Preparation of chromium-containing material of glucose tolerance factor activity from brewer's yeast extracts and synthesis. **J. Agri. Food Chem.** v. 25, p. 162-166, 1977.
- URBERG, M., J. BENYI e R. JOHN. Hypocholesterolemic effects of nicotinic acid and chromium supplementation, **J. Fam. Prac.** v. 27, n. 6, p. 603-606, 1988.
- VÁSQUEZ, E. F. A. e A. P. N. HERRERA. Cortisol, urea, calcium and phosphorus plasma concentration in grazing beef cows supplemented with high chromium yeast during breeding season. **Cien. Rural.** v. 33, n. 4, p. 743-747, 2003.
- XIN-JIAN, L. G. TENG-YUN, C. ZHI-LIU e X. JIN-HUA. Effects of niacin and chromium nicotinate on dairy performance and serum hormone levels of heat-stressed dairy cows. *J. Huazhong Agri Univ. (Natural Science Edicion).* v. 25, n. 4, p. 411-415, 2006.
- ZIMBELMAN, R. B., L. H. BAUMGARD, T. R. BILBY e R. J. COLLIER. Effects of encapsulated niacin on evaporative heat loss and body temperature in moderately heat-stressed lactating holstein cows. **J. Dairy sci.** v. 93, Suppl. 6, p. 2387-2394, 2010.
- WHEELOCK, J. B., R. P. RHOADS, M. J. VANBAALE, S. R. SANDERS e L. H. BAUMGARD. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. **J. Dairy Sci.** v. 93, p. 644-655, 2010.
- YALOW, R. S. e S. A. BERSON. Immunoassay of endogenous plasma insulin in men. **Obes. Res.** v. 4, p. 583-600, 1996.
- YANG, W. Z., D. N. MOWAT, A. SUBIYATNO e R. M. LIPTRAP. Effects of chromium supplementation on early lactation performance of Holstein cows. **Can. J. Anim. Sci.** v. 76, p. 221-230, 1996.

YANXIA, G., L. JIANGUO, J. WENBIN, L. QIUFENG e C. YUFENG. Response of lactating cows to supplemental rumen protected methionine and niacin. **Front. Agri. China.** v. 2, Suppl.1, p. 121–124, 2008.

YARI, M., A. NIKKHAH, M. ALIKHANI, M. KHORVASH, H. RAHMANI e G. R. GHORBANI. Physiological calf responses to increased chromium supply in summer. **J. Dairy Sci.** v. 93, p. 4111–4120, 2010.

YUAN, K., R. D. SHAVER, M. ESPINEIRA e S. J. BERTICS. Effect of a rumen-protected niacin product on lactation performance by dairy cows during summer in Wisconsin. **Professional Anim. Scient.** v.27, n. 3, p. 190-194, 2011.

Tabela 1 – Efeito dos tratamentos com cromo, cromo + niacina e niacina em vacas leiteiras submetidas a estresse térmico na produção e parâmetros de leite, parâmetros sanguíneos e temperatura de superfície.

Parâmetro	Tratamentos <sup>1</sup>			
	GN	GCr	GNCr	GC
Produção de leite, L.	22.95 <sup>bc</sup> ± 1.83	22.08 <sup>c</sup> ± 1.42	24.83 <sup>a</sup> ± 1.22	23.57 <sup>ab</sup> ± 1.60
TSP <sup>2</sup> preto, °C	38.33 ± 2.78	38.35 ± 2.11	37.99 ± 2.96	38.7 ± 2.89
TSP <sup>2</sup> branco, °C.	37.78 ± 3.16	37.48 ± 3.49	39.14 ± 3.17	37.7 ± 3.08
BHB, µmol/L	783.04 <sup>a</sup> ± 244.42	661.17 <sup>b</sup> ± 194.42	762.34 <sup>ab</sup> ± 215.28	712.71 <sup>ab</sup> ± 195.52
AGNE, µmol/L.	107.14 ± 49.21	113.27 ± 54.9	137.27 ± 65.8	111.76 ± 61.75
Glicose, mg/dL.	130.33 ± 20.5	134.69 ± 23.4	128.65 ± 18	127.34 ± 20.6
Colesterol, mg/dL.	277.91 <sup>b</sup> ± 44.88	227.73 <sup>c</sup> ± 73.96	298.44 <sup>a</sup> ± 84.85	259.22 <sup>bc</sup> ± 54.70
Insulina, µUI/ml.	2.53 ± 1.71	2.38 ± 1.32	2.08 ± 1.41	2.04 ± 1.82
T <sub>3</sub> , ng/dL.	156.76 <sup>a</sup> ± 25.76	140.06 <sup>b</sup> ± 26	148.95 <sup>ab</sup> ± 27.63	149.94 <sup>ab</sup> ± 18.33
T <sub>4</sub> , µg/dL.	6.23 ± 0.97	6.17 ± 1.32	6.18 ± 1.38	6.37 ± 1.12
Cortisol, µg/dL.	0.53 ± 0.44	0.52 ± 0.37	0.53 ± 0.44	0.38 ± 0.29
CCS, x 10 <sup>3</sup> .	1073.27 <sup>b</sup> ± 1423.96	2475.54 <sup>a</sup> ± 2204.18	713.96 <sup>b</sup> ± 777.67	2753.79 <sup>a</sup> ± 3018
NUL, mg/dL.	14.28 <sup>a</sup> ± 2.72	12.57 <sup>b</sup> ± 2.09	14.47 <sup>a</sup> ± 2.56	13.01 <sup>ab</sup> ± 2.70

<sup>1</sup> GN= grupo niacina, GCr= grupo Cromo, GNCr= grupo cromo + niacina, GC= grupo controle.

<sup>2</sup> Temperatura de superfície de pelame.

<sup>a,b</sup> Diferença entre grupos (P<0,05).

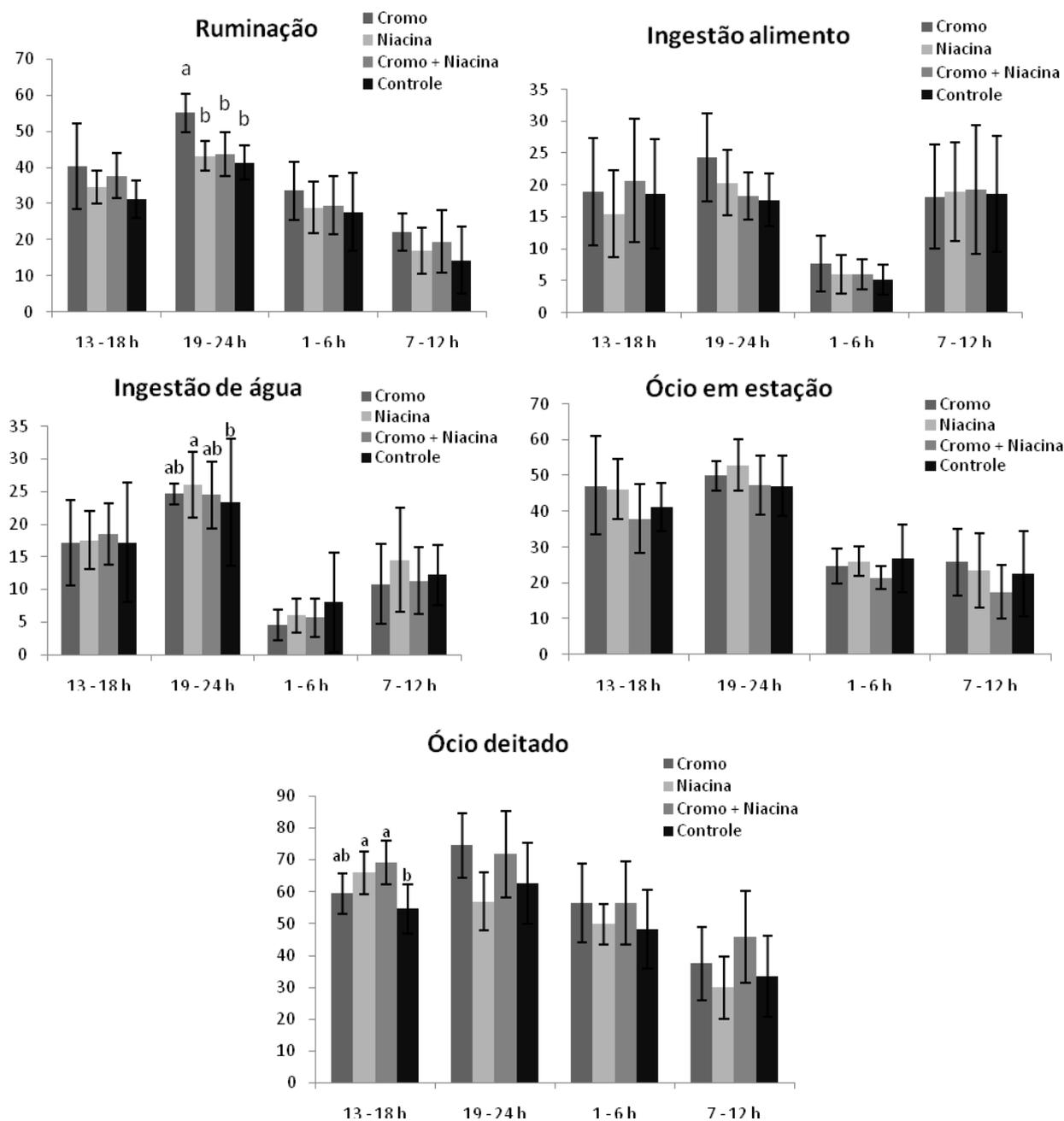


Figura 1 – Frequência de ingestão de água e de alimento, de ruminação, de ócio deitado e de ócio em estação de vacas leiteiras submetidas a estresse térmico e tratadas com niacina, cromo, niacina+cromo. <sup>a,b</sup> diferença entre grupos ( $P < 0,05$ ).

#### **4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O principal desafio do produtor atualmente está em assegurar a manutenção produtiva em vacas submetidas à altas temperaturas. O presente estudo demonstrou que o uso de cromo-levedura e niacina protegida em conjunto é efetivo na melhoria da produção em vacas durante o verão, nas condições de clima da Região Sul.

A niacina mostrou ter efeito na redução da contagem de células somáticas em vacas submetidas ao calor, no entanto novos estudos tornam-se necessários para determinar o mecanismo dessa redução.

Este estudo indica ainda que a ação dos dois suplementos tem efeito superior ao seu uso isolado, na produção, o que sugere uma atividade sinérgica entre o cromo e a niacina no organismo de vacas em estresse térmico. Vacas leiteiras suplementadas com Cr-niacina apresentaram um incremento nas atividades catabólicas, já que houve aumento nos teores de  $\beta$ -hidroxibutirato e nitrogênio uréico no leite nesses animais. No entanto estes resultados não são conclusivos em determinar como o mecanismo pelo qual esse sinergismo ocorre. Novos estudos são necessários para elucidar os mecanismos atuantes na ação do cromo e da niacina na produção de leite em vacas submetidas à estresse térmico.

O aumento significativo na produção possibilitado pela niacina+cromo, apresenta uma alternativa aos produtores que necessitam manter a produção de seu rebanho em períodos de clima quente.

## 5. BIBLIOGRAFIA

ALBRIGHT, J.L. Dairy animal welfare: current and needed research. **J. Dairy Sci.** v.70, p.2711-2718, 1987.

ANDERSON, R.A. Chromium In: MERTZ, E. **Trace Elem. Human Animal Nutri.** 1<sup>st</sup> edition. New York: Academic Press. p.225-244, 1987.

ANDERSON, R. A. Chromium: History and nutritional importance. **Biol. Trace Elem. Res.**, v. 32, n. 3, p. 409-421, 1988.

ANDERSON, R.; MERTZ, A.W. Glucose tolerance factor: an essential dietary agent. **Trends Biochem. Sci.** v. 2, p. 277–284, 1977.

ARAGÓN, V.E.F. et al. Suplementação com cromo e desempenho reprodutivo de vacas zebu primíparas mantidas a pasto. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v. 53, n. 5, p. 624-628, 2001.

ARCARO JÚNIOR, I. et al. Respostas fisiológicas de vacas em lactação à ventilação e aspersão na sala de espera. **Cien. Rural**, v. 35, n. 3, 2005.

BACCARI Jr., F. Clima: Influência na produção de leite. In: I SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AMBIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE LEITE, **Anais...** Piracicaba, p. 24-67, 1998.

BAÊTA, F.C.; SOUZA, C.F. **Ambiência em edificações rurais – conforto animal.** Viçosa: UFV, 246p., 1997.

BAIRD, G.D.; HIBBIT, K.G.; HUNTER, G.D.; LUND, P.; STUBBS, M.; KRTBS, H.A. Biochemical aspects of bovine ketosis. **Biochem. J.** v. 107, p. 683-689, 1968.

BALCH, C.C.; CAMPLING, R.C. Regulation of voluntary food intake in ruminants. **Nutr. Abstr. Rev.** v. 32, n. 3, p. 669-686, 1962.

BANKS, E. Behavioral research to answer questions about animal welfare. **J. Anim. Sci.** v. 54, n. 2, p. 434-455, 1982.

BAUMGARD, L.H. et al. Effects of Heat Stress on Nutritional Requirements of Lactating Dairy Cattle. 2006, Tempe. In.: 5<sup>a</sup> Annual Arizona Dairy Production Conference, **Anais...** Tempe. p. 8-17, 2006.

BENYO, Z. et al. Nicotinic acid induced flushing is mediated by activation of epidermal langerhans cells. **Mol. Pharmacol.** v. 70, n.6, p. 1844-1849, 2006.

BIANCO, A.C.; KIMURA, E.T. **Fisiologia da glândula tireóide.** In: AIRES, M.M. (Ed.) Fisiologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 812-828.

BIZINOTO, A.L. et al. Influências do sombreamento e da suplementação com cromo nas carcaças de bovinos nelore terminados em sistema intensivo de pastejo com lotação rotacionada. **Vet. Not.** v. 12, n. 2, p. 100, 2006.

BLACKSHAW, J.K.; BLACKSHAW, A.W. Heat stress in cattle and the effect of shade on production and behaviour: a review. **Austr. J. Exp. Agr.**, v. 34, p. 285-295, 1994.

BOGAN, K.L.; BRENNER C. Nicotinic acid, nicotinamide, and nicotinamide riboside: a molecular evaluation of NAD<sup>+</sup> precursor vitamins in human nutrition. **Annu. Rev. Nutr.** v. 28, p. 115-130, 2008.

BOLKENT, S. Beneficial effects of combined treatment with niacin and chromium on the liver of hyperlipemic rats. **Biol. Trace Elem. Res.** v. 101, p. 219-229, 2004.

CAMARGO, A. C. **Comportamento de vacas da raça Holandesa em confinamento do tipo free-stall, no Brasil Central.** 1988. p.146. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz. Piracicaba, 1988.

CAMPBELL, J.M. et al. Kinetics of Niacin Supplements in Lactating Dairy Cows. **J. Dairy Sci.** v. 77, p. 566-575, 1994.

CHANG, X.; MOWAT, D. N.; MALLARD, B. A. Supplemental chromium and niacin for stressed feeder calves. **Can. J. Anim. Sci.** v. 75. p. 351-358, 1995.

CHENG K. et al. Antagonism of the prostaglandin D2 receptor 1 suppresses nicotinic acid-induced vasodilation in mice and humans. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** v. 103, p. 6682-6687, 2006.

COIMBRA, P.A.D. **Aspectos extrínsecos do comportamento de bebida de bovinos em pastoreio.** 104 p. 2007. Dissertação (mestrado em Agroecossistemas) – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2007.

CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de fisiologia veterinária.** Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 3. ed., 2004, 579p.

DAMASCENO, J. C. et al. Respostas fisiológicas e produtivas de vacas Holandesas com acesso à sombra constante ou limitada. **Rev. Bras. Zootec.**, Viçosa, v. 27, n. 3, p. 595-602, 1998.

DE ARAÚJO, M.S.; et al. Níveis de cromo orgânico na dieta de codornas japonesas mantidas em estresse por calor na fase de postura. **R. Bras. Zootec.** v. 36, n. 3, p. 584-588, 2007.

DENBOW, C.J. et al. Effect of Season and Stage of Lactation on Plasma Insulin and Glucose Following Glucose Injection in Holstein Cattle **J. Dairy Sci.** v. 69, p. 211-216, 1986.

DI COSTANZO, A.; SPAIN, J.N.; SPIERS, D.E. Supplementation of Nicotinic Acid for Lactating Holstein Cows Under Heat Stress Conditions. **J. Dairy Sci.** v. 80, p. 1200–1206, 1997.

DRACKLEY, J.K.; CICELA, T.M.; LACOUNT, D.W. Responses of Primiparous and Multiparous Holstein Cows to Additional Energy from Fat or Concentrate During Summer. **J. Dairy Sci.** v. 86, p. 1306–1314, 2003.

DUFVA, G.S. et al. Effect of Niacin Supplementation on Milk Production and Ketosis of Dairy Cattle. **J. Dairy Sci.** v. 66, p. 2329-2336, 1983.

EMBRAPA, EMPRAPA GADO DE LEITE. **Produtividade animal em países selecionados** – 2009. 2011. Acessado em: 16 de janeiro de 2012. Disponível em: <http://www.cnppl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/producao/tabela0219.php>.

ENCARNAÇÃO, R.O. Estresse e produção animal. 3 reimp. Campo Grande. **EMBRAPA-CNPGC**, 1997. 32p.

FALDYNA, M.; PECHOVA, A.; KREJCI, J. Chromium supplementation enhances antibody response to vaccination with tetanus toxoid in cattle. **J. Vet. Med.** v. 50, p. 326–331, 2003.

FRASER, D., RUSHEN, J. Aggressive behavior. In: PRICE, E.O. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. Philadelphia, Sanders. p. 285-305, 1987.

FUQUAY, J.W. et al. Modifications in freestall housing for dairy cows during the summer. **J. Dairy Sci.** v. 62, p. 577-583, 1979.

GIOMETTI, J. et al. Efeito da suplementação com levedura de crômio no cortisol sérico de bovinos. **Arch. Zootec.** v. 56, n. 213, p. 79-82, 2007.

GRUMMER, R.R.; CARROLL, D.J. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. **J. Anim Sci.** v. 69, p. 3838-3852, 1991.

HAYIRLI, A. et al. Effect of chromium supplementation on production and metabolic parameters in periparturient dairy cows. **J. Dairy Sci.** v.84, p. 1218-1230, 2001.

HOF, G. et al. Milk urea nitrogen as a tool to monitor the protein nutrition of dairy cows. **J. Dairy Sci.** v. 80, p. 3333-3340, 1997.

HORNER, J.L. et al. Effects of niacin and whole cottonseed on ruminal fermentation, protein degradability, and nutrient digestibility. **J. Dairy Sci.** v. 71, p. 1239–1247, 1988.

HUBER, J.T. Alimentação de vacas de alta produção sob condições de stress térmico. In: **Bovinoc. Leit.** Piracicaba: FEALQ. p. 33-48, 1990.

ILLIUS, A.W. Advances and retreats in specifying the constraints on intake in grazing ruminants. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 18., 1998, Calgary. **Anais...** Calgary: Association Management Centre, p. 39-44, 1998.

INCELI, M.S. The effects of combined treatment with niacin and chromium on the renal tissues of hyperlipidemic rats. **Mol. Cell. Biochem.** v. 294, p. 37-44, 2007.

ITOH, F. et al. Insulin and glucagon secretion in lactating cows during heat exposure. **J. Anim. Sci.** v. 76, p. 2182-2189, 1998.

JOHNSON, H. D. et al. Temperature-humidity effects including influence of acclimation in feed and water consumption of Holstein cattle. **Agr. Exp. Sta. Res. Bul.** 1963. Apud.: WEST, J.W. Effects of Heat-Stress on Production in Dairy Cattle. **J. Dairy Sci.** v. 86, p. 2131–2144, 2003.

KARKOODI, K.; TAMIZRAD, K. Effect of niacin supplementation on performance and blood parameters of Holstein cows. **S. Afr. J. Anim. Sci.** v. 39, n. 4, p. 349-354, 2009.

KATAYAMA, K.A. **Efeito do manejo e de variáveis bioclimáticas sobre a taxa de gestação em vacas receptoras de embriões.** 60 p. Dissertação (mestrado em Produção Animal) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - Campo Grande, 2006.

KIRCHGESSNER, M.; KREUZER, M.; ROTH-MAIER, D.A. Milk urea and protein content to diagnose energy and protein malnutrition of dairy cows. **Arch. Anim. Nutr.** v. 36, p. 192–197, 1986.

LAGANÁ, C.; BARBOSA Jr., A.M.; MÉLO, D.L.M.F.; RANGEL, J.H.A. Respostas comportamentais de vacas holandesas de alta produção criadas em ambientes quentes, mediante ao sistema de resfriamento adiabático evaporativo. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v. 6, n. 2, p. 67-76 , 2005.

LANHAM, J.K. et al. Effects of whole cottonseed or niacin or both on casein synthesis by lactating Holstein cows. **J. Dairy Sci.** v. 75, p. 184–192, 1992.

MACIEJEWSKI-LENOIR, D. et al. Langerhans cells release prostaglandin D2 in response to nicotinic acid. **J. Invest. Dermatol.** v. 126, n. 12, p. 2637-2646, 2006.

MALLONEE, P.G. et al. Production and Physiological Responses of Dairy Cows to Varying Dietary Potassium During Heat Stress. **J. Dairy Sci.** v. 68, p. 1479-1487, 1985.

MARTELLO, L.S. **Diferentes recursos de climatização e sua influência na produção de leite, na termorregulação dos animais e no investimento das instalações.** 2002. 98 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Produtividade Animal) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2002.

MARTELLO, L.S. et al. Respostas Fisiológicas e Produtivas de Vacas Holandesas em Lactação. **Ver. Bras. Zoot.**, v. 33, n. 1, p. 181-191, 2004.

MARTELLO, L.S. **Interação animal-ambiente: efeito do ambiente climático sobre as respostas fisiológicas e produtivas de vacas Holandesas em *free-stall*.** 113p. Tese (doutorado em Qualidade e Produtividade Animal) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.

MEIRELES, I.P. **Influência do sombreado artificial em parâmetros fisiológicos e produtivos de vacas mestiças (holandês x zebu).** 2005. 65 p. Dissertação (mestrado em produção de ruminantes) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2005.

MERTZ, W., Chromium history and nutritional importance. **Biol. Trace Elem. Res.** v. 32, p. 3-8, 1992.

MOHAMMED, M.E.; JOHNSON, H.D. Effect of growth hormone on milk yields and related physiological functions of Holstein cows exposed to heat stress. **J. Dairy Sci.** v. 68, p. 1123-1133, 1985.

MORAIS, D.E.F. et al. Variação anual de hormônios tireoideanos e características termorreguladoras de vacas leiteiras em ambiente quente. **R. Bras. Zootec.**, v. 37, n. 3, p. 538-545, 2008.

MOREY, S.D. et al. Effects of encapsulated niacin on metabolism and production of periparturient dairy cows. **J. Dairy Sci.** v. 94, n. 10, p. 5090-5104, 2011.

MÜLLER, P.B. **Bioclimatologia aplicada aos animais domésticos**. Porto Alegre: Sulina, 1989. 262p.

MULLER, L.D. et al. Supplemental Niacin for Lactating Cows During Summer Feeding. **J. Dairy Sci.** v. 69, p. 1416-1420, 1986.

MUROYA, S.; TERADA, F.; SHIOYA, S. Influence of heat stress on distribution of nitrogen in milk. **Anim. Sci. Tech.** v. 68, n. 3, p. 297–300, 1997.

NÄÄS, I.A. **Princípios de conforto térmico na produção animal**. São Paulo: Ícone, 1989. 183p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient requirements of dairy cattle, **National Academy of Sciences**, Washington, DC. Ed. 7, 2001.

NETO, A.P. et al. Desempenho e qualidade da carne de bovinos Nelore e F1 Brangus × Nelore recebendo suplemento com cromo complexado à molécula orgânica na terminação a pasto. **Bras. Zootec.**, v. 38, n. 4, p. 737-745, 2009.

NIEHOFF, I.D.; HÜTHER, L.; LEBZIEN, P. Niacin for dairy cattle: a review. **Brit. J. Nutr.** v. 101, p. 5–19, 2009.

NOUSIAINEN, J.; SHINGFIELD, K.J.; HUHTANEN, P. Evaluation of Milk Urea Nitrogen as a Diagnostic of Protein Feeding. **J. Dairy Sci.** v. 87, p. 386–398, 2004.

OLIVO, C.J. et al. Comportamento de vacas da raça holandesa em pastagem manejada sob princípios agroecológicos. **Cien. Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 862-869, 2005.

OMINSKI, K.H. et al. Physiological and production responses to feeding schedule in lactating dairy cows exposed to short-term, moderate heat stress. **J. Dairy Sci.** v. 85, p. 730-737, 2002.

PAAPE, M.J.; SCHULTZ, W.D.; MILLER, R.H.; SMITH, J.W. Thermal stress and circulating erythrocytes, leucocytes and milk somatic cells. **J. Dairy Sci.** v. 56, p. 84-91, 1973.

PASSINI, R. et al. Estresse térmico sobre a seleção da dieta por bovinos. **Acta Sci. Anim. Sci.** v. 31, n. 3, p. 303-309, 2009.

POCAY, P.L.B. et al. Respostas fisiológicas de vacas holandesas predominantemente brancas e predominantemente negras sob radiação solar direta. **Ars Vet.**, v. 17, n. 2, p. 155-161, 2001.

POGLIANI, F.C.; BIRGEL JUNIOR, E. Valores de referência do lipidograma de bovinos da raça holandesa, criados no Estado de São Paulo **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 44, n. 5, p. 373-383, 2007.

PURWANTO, V.P. et al. Diurnal patterns of heat production and heat rate under thermoneutral conditions in Holstein Friesian cows differing in milk production. **J. Agr. Sci.** v. 142, p. 114-139, 1990.

RAJALA-SCHULTZ, P.J.; SAVILLE, W.J.A. Sources of Variation in Milk Urea Nitrogen in Ohio Dairy Herds. **J. Dairy Sci.** v. 86, p. 1653–1661, 2003.

REYNOLDS, C.K.; HUNTINGTON, G.B.; TYRRELL, H.F.; REYNOLDS, P.J. Net Metabolism of Volatile Fatty Acids, D-(-)-Hydroxybutyrate, Nonesterified Fatty Acids,

and Blood Gasses by Portal-Drained Viscera and Liver of Lactating Holstein Cows. **J. Dairy Sci.** v. 71, p. 2395-2405, 1988.

RIDDELL, D.O.; BARTLEY, E.E.; DAYTON, D.A. Effect of nicotinic acid on rumen fermentation in vitro and in vivo. **J. Dairy Sci.** v. 63, p. 1429–1436, 1980.

ROENFELDT, S. You can't afford to ignore heat stress. **Dairy Manage**, v. 35, n. 5, p. 6-12, 1998.

ROMAN-PONCE, H. et al. Physiological and Production Responses of Dairy Cattle to a Shade Structure in a Subtropical Environment **J. Dairy Sci.** v. 60, n. 3, 1977.

RÓMULO, C. et al. Indicadores do controle endócrino em vacas leiteiras de alta produção e sua relação com a composição do leite. **Acta Sci. Vet.** v. 33, n. 2, p. 147-153, 2005.

SCHWARTZ, K.; MERTZ W. Chromium (III) and the glucose tolerance factor. **Arch. Bioch. Biophys.** v.85, p. 292-295, 1959.

SCOTT, I.M.; JOHNSON, H.D.; HAHN, G.L. Effect of programmed diurnal temperature cycles on plasma thyroxine level, body temperature, and feed intake of Holstein dairy cows. **Int. J. Biometeor.** v. 27. p. 47–62, 1983.

SEATH, M.D.; MILLER, G.D. Effects of shade and sprinkling with water on summer comfort of jersey cows. **J. Dairy Sci.** v. 30, n. 4, p. 255-261, 1947.

SETTIVARI, R.S. et al. Relationship of Thermal Status to Productivity in Heat-Stressed Dairy Cows Given Recombinant Bovine Somatotropin **J. Dairy Sci.** v. 90, p. 1265–1280, 2007.

SHINGFIELD, K.J. et al. Association between protein feeding and reproductive efficiency in the dairy cow: specific emphasis on protein feeding in Finland. **Agric. Food Sci. Finl.** v. 8, p. 365–392, 1999.

SHWARTZ, G. et al. Effects of a supplemental yeast culture on heat-stressed lactating Holstein cows. **J. Dairy Sci.** v. 92, p. 935–942, 2009.

SOUZA, L.M.G. et al. Influência do cromo no desempenho, na qualidade da carne e no teor de lipídeos no plasma sanguíneo de frangos de corte. **R. Bras. Zootec.** v. 39, n. 4, p. 808-814, 2010.

SRIKANDAKUMAR, A. e JOHNSON, E.H. Effect of heat stress on milk production, rectal temperature, respiratory rate and blood chemistry in Holstein, Jersey and Australian Milking Zebu cows. **Trop. Anim. Health Pro.** v. 36, n.7, 685-692, 2004.

ST-PIERRE, N.R.; COBANOV, B.; SCHNITKEY, G. Economic losses from heat stress by US livestock industries. **J. Dairy Sci.** v. 86, Supl. E, p. 52-77, 2003.

STUDER, V.A.; GRUMER, R.R.; BERTIS, S.J. Effect of prepartum propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v. 76, n. 10, p. 2931-2939, 1993.

TITTO, E.A.L. Clima: Influência na produção de leite. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AMBIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE LEITE, 1., Piracicaba,1998. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, p.10-23, 1998.

TOEPFER, E.W.; MERTZ, W.; POLANSKY, M.M. Preparation of chromium-containing material of glucose tolerance factor activity from brewer's yeast extracts and synthesis. **J. Agric. Food Chem.** v. 25, p. 162-166, 1977.

VÁSQUEZ, E.F.A.; HERRERA, A.P.N. Concentração plasmática de cortisol, uréia, cálcio e fósforo em vacas de corte mantidas a pasto suplementadas com levedura de cromo durante a estação de monta. **Cien. Rural**, v.33, n.4, p.743-747, 2003.

ZIMBELMAN, R.B. et al. Effects of Encapsulated Niacin on Evaporative Heat Loss and Body Temperature in Moderately Heat-Stressed Lactating Holstein Cows. **J. Dairy Sci.** v. 93, n. 6, p. 2387-2394, 2010.

WEGNER, T.N. et al. Effect of stress on blood leucocyte and milk somatic cell counts in dairy cows. **J. Dairy Sci.** v.59, n. 5, p. 949-956, 1976.

WEST, J.W. Nutritional Strategies for Managing the Heat-Stressed Dairy Cow. **J. Anim. Sci.** v. 77, p. 21-35, 1999.

WEST, J.W. Effects of Heat-Stress on Production in Dairy Cattle. **J. Dairy Sci.** v. 86, p. 2131–2144, 2003.

WEST, J.W.; MULLINIX, B.G.; BERNARD, J.K. Effects of Hot, Humid Weather on Milk Temperature, Dry Matter Intake, and Milk Yield of Lactating Dairy Cows. **J. Dairy Sci.** v. 86, p. 232–242, 2003.

WHEELLOCK, J.B. et al. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. **J. Dairy Sci.** v. 93, p. 644–655, 2010.

WISE, M.E. et al. Hormonal Alterations in the Lactating Dairy Cow in Response to Thermal Stress. **J Dairy Sci.** v. 71, p. 2480-2485, 1988.

YOUSEF, M.K., JOHNSON, H.D. Endocrine system and thermal environment. In: YOUSEF, M. K. **Stress physiology in livestock**. Baltimore: CRC Press, v.1, c.12, p.135-141, 1985.

YAMAMOTO, A.; WADA, O.; MANABE, S. Evidence that chromium is an essential factor for biological activity of low-molecular-weight chromium- binding substance. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** v. 163, p. 189–193, 1989.