

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 27/03/2022.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**USO DE ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO SOBRE
FERMENTAÇÃO RUMINAL, RESPOSTA IMUNOLÓGICA,
PRODUÇÃO E QUALIDADE DO LEITE**

**Edivilson Silva Castro Filho
Engenheiro Agrônomo**

2020

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**USO DE ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO SOBRE FERMENTAÇÃO
RUMINAL, RESPOSTA IMUNOLÓGICA, PRODUÇÃO E
QUALIDADE DO LEITE**

Discente: Edivilson Silva Castro Filho

**Orientadora: Profa. Dra. Jane Maria Bertocco
Ezequiel**

**Coorientador: Prof. Dr. Eric Haydt Castelo Branco van
Cleef**

**Coorientador: Dr. Luiz Carlos Roma
Júnior**

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus
de Jaboticabal, como parte das exigências
para a obtenção do título de Doutor em
Zootecnia**

2020

C355u Castro Filho, Edivilson Silva
Uso de óleo essencial de tomilho sobre fermentação ruminal,
resposta imunológica, produção e qualidade do leite / Edivilson Silva
Castro Filho. -- Jaboticabal, 2020
93 p. : tabs. + 1 CD-ROM

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientadora: Jane Maria Bertocco Ezequiel
Coorientador: Luiz Carlos Roma Júnior

1. Bovino de leite. 2. Fitoterapia. 3. Mastite bovina. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: USO DE ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO SOBRE A FERMENTAÇÃO RUMINAL, RESPOSTA IMUNOLÓGICA, PRODUÇÃO E QUALIDADE DO LEITE

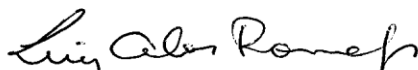
AUTOR: EDIVILSON SILVA CASTRO FILHO

ORIENTADORA: JANE MARIA BERTOCCO EZEQUIEL

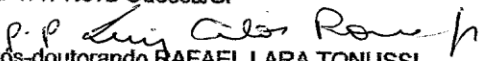
COORIENTADOR: LUIZ CARLOS ROMA JÚNIOR

COORIENTADOR: ERIC HAYDT CASTELLO BRANCO VAN CLEEF

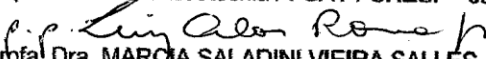
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em ZOOTECNIA, pela Comissão Examinadora:



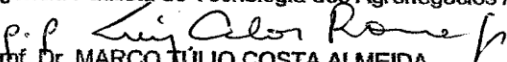
Prof. Dr. LUIZ CARLOS ROMA JÚNIOR
APTA / Nova Odessa/SP



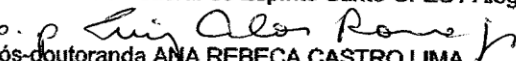
Pós-doutorando RAFAEL LARA TONUSSI
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dra. MARCIA SALADINI VIEIRA SALLES
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios / APTA / Ribeirão Preto/SP



Prof. Dr. MARCO TÚLIO COSTA ALMEIDA
Universidade Federal do Espírito Santo-UFES / Alegre/ES



Pós-doutoranda ANIA REBECA CASTRO LIMA
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 27 de março de 2020

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Edivilson Silva Castro Filho, filho de Edivilson Silva Castro e Sandra Maria Lessa da Cunha Castro, nasceu em 27 de setembro de 1987 na cidade de Aracaju, estado de Sergipe. Ingressou no curso de Engenharia Agrônoma na Universidade Federal de Sergipe, UFS, Câmpus de São Cristovão no ano de 2007. Durante a graduação, fez estágio na área de alimentação e nutrição animal na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA Tabuleiros Costeiros), de 26/09/2009 a 29/07/2011, onde também foi bolsista de Iniciação Científica (PIBIC) pela FAPITEC/SE no período de 01/08/2011 a 26/01/2012 e participou de projetos de pesquisa. Graduou-se em dezembro de 2011, em agosto de 2012, ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, da Universidade Federal de Sergipe, UFS, Câmpus de São Cristovão sob orientação do Prof. Dr. Evandro Neves Muniz e foi bolsista da CAPES. Em julho de 2014 obteve o Título de Mestre em Zootecnia. Em agosto de 2016 ingressou no curso de Doutorado em Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias / UNESP – Câmpus de Jaboticabal sob orientação da Profa. Dra. Jane Maria Bertocco Ezequiel, coorientação do Prof. Dr. Eric Haydt Castello Branco van Cleef e do pesquisador Luiz Carlos Roma Júnior.

*“A sabedoria da vida não está em fazer aquilo de
que se gosta, mas gostar daquilo que se faz.”*

Dedico este trabalho aos meus pais, por todo o amor e dedicação para comigo, por terem sido a peça fundamental para que eu tenha me tornado a pessoa que hoje sou.

A minha família e amigos pelo carinho, apoio e torcida pelo meu sucesso.

A minha namorada por todo apoio, carinho e companheirismo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, por me dar forças e se fazer presente em cada momento, sendo eles fracassos ou vitórias. Obrigado por tudo Senhor!

Aos meus pais Sandra e Edivilson, por todo amor, carinho e esforço que sempre fizeram para criar as oportunidades em minha vida. Vocês são orgulho e exemplo para mim, de pessoas fortes e de caráter.

Aos meus irmãos Priscilla e Eduardo, que mesmo de longe, sempre torcem pelo meu sucesso. Amo vocês e contem sempre comigo.

A minha namorada Paula, por todo amor, carinho e apoio, principalmente nessa reta final, em que mais precisei. Sou muito grato por ter você em minha vida. Te amo!

Aos meus sogros Maria Antônia e José Manoel, minha cunhada Camila e concunhado Vitor, por todo apoio, torcida e me fazerem parte da família.

A minha orientadora Profa. Dra. Jane, pela oportunidade, confiança, conhecimento compartilhado, amizade e por toda orientação. Muito Obrigado!

Ao Dr. Luiz Carlos Roma Júnior, pela oportunidade, orientação e pelos conhecimentos compartilhados. Muito Obrigado!

Ao Dr. Eric, pelo auxílio durante o projeto e conhecimento compartilhado.

Aos meus familiares e amigos pelo apoio, e torcida, todos são muito importantes em minha vida.

As pessoas que passaram pela minha vida e contribuíram de alguma forma para que essa conquista fosse possível. Os amigos que fiz durante esse período: Marco Túlio, Josimary, Henrique, Sérgio, Kênia, Igor, Rayanne, João, Maria e os que não foram citados, pelos momentos divertidos e conhecimentos compartilhados.

Ao pessoal da família JBK, pela amizade, torcida e momentos felizes.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

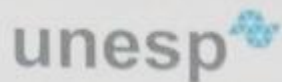
À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro (número do protocolo: 2014 / 01212-4).

Agradeço, por fim, aos professores da UNESP, que partilharam seus conhecimentos e contribuíram para esse momento. Muito obrigado!

SUMÁRIO

	Página
CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	x
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
INTRODUÇÃO.....	1
REVISÃO DE LITERATURA.....	2
Qualidade do Leite.....	2
Mastite e a CCS.....	3
Produção Animal e Saúde Pública.....	4
Plantas Medicinais e Produção Animal.....	5
Tomilho (<i>Thymus vulgaris</i> L.).....	7
REFERÊNCIAS.....	9
CAPÍTULO 2 – EFFECT OF THYME ESSENTIAL OIL ON THE METABOLISM, BLOOD PARAMETERS, AND GREENHOUSE GASES PRODUCTION IN FEEDLOT NELLORE CATTLE.....	16
ABSTRACT.....	17
INTRODUCTION.....	18
MATERIALS AND METHODS.....	19
Animals, housing, treatments, and sample collection.....	19
Chemical-bromatological analyzes, and total apparent digestibility.....	20
Rumen pH, ammonia nitrogen, and VFA profiles.....	21
Blood analyses.....	22
Gas measurements.....	22
Feeding behaviour.....	23
Statistical analysis of results.....	24
RESULTS.....	24
Intake, total apparent digestibility, and feeding behavior.....	24

Ruminal parameters.....	25
Blood parameters.....	25
DISCUSSION.....	26
Intake, total apparent digestibility, and feeding behavior.....	26
Ruminal parameters.....	26
Blood parameters.....	28
CONCLUSIONS.....	29
ACKNOWLEDGEMENTS.....	29
REFERENCES.....	29
CAPÍTULO 3 – SUPPLEMENTATION OF LACTATING DAIRY COWS WITH THYME (<i>THYMUS VULGARIS</i> L.) ESSENTIAL OIL AND ITS EFFECTS ON PERFORMANCE, IMMUNE RESPONSE AND MILK QUALITY.....	43
ABSTRACT.....	43
INTRODUCTION.....	44
MATERIALS AND METHODS.....	46
Animals, facilities and management.....	46
Milk and blood sampling and analysis.....	58
Statistical analysis.....	50
RESULTS.....	51
Dry matter and nutrient intake and milk production and quality.....	51
Blood parameters.....	52
Milk and blood compounds.....	52
DISCUSSION.....	53
Dry matter and nutrient intake and milk production and quality.....	53
Blood parameters.....	54
Milk and blood compounds.....	55
CONCLUSIONS.....	57
ACKNOWLEDGEMENTS.....	57
REFERENCES.....	57

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal

**CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS****CERTIFICADO**

Certificamos que o Protocolo nº 4093/15 do trabalho de pesquisa intitulado "Suplementação de Óleo essencial de Tomilho (*Thymus vulgaris*) na fermentação ruminal, resposta imunológica, produção e qualidade do leite", sob a responsabilidade da Profª Drª Jane Maria Bertocco Ezequiel está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 01 de abril de 2015.

Jaboticabal, 01 de abril de 2015.

Prof.ª Dr.ª Paola Castro Moraes
Coordenadora – CEUA

SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO SOBRE FERMENTAÇÃO RUMINAL, RESPOSTA IMUNOLÓGICA, PRODUÇÃO E QUALIDADE DO LEITE

RESUMO - A redução de células somáticas é o maior desafio para a melhoria da qualidade do leite, pois está relacionada com a ocorrência de mastite e conseqüentemente ao uso de antibióticos para seu controle, e prejuízos para a cadeia agroindustrial do leite. A busca por alternativas ao uso de antibióticos vem incentivando pesquisas na área de plantas medicinais. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do uso de óleo essencial de tomilho (TEO) sobre a fermentação ruminal de bovinos, resposta imunológica, produção e qualidade do leite ao longo de 2 experimentos. No primeiro experimento, para avaliar o nível de adição de TEO, por meio de parâmetros de fermentação e metabolismo ruminal, foram utilizados 4 bovinos Nelore (700 ± 44 kg PV), castrados, e canulados no rumen, distribuídos em delineamento quadrado latino 4×4 , sendo 4 tratamentos experimentais e 4 períodos. Os tratamentos consistiram em: CON = controle, sem TEO; T2 = 2 mL / d de TEO; T4 = 4 mL / d de TEO; e T8 = 8 mL / d de TEO. O TEO teve como principal composto o timol, com 423 g/kg de timol na MS (matéria seca). Os animais foram alojados em baias semicobertas individuais (9 m^2) com cochos e bebedouros individuais. Cada período experimental durou 21 dias (14 dias de adaptação e 7 dias de coleta de dados). Já no segundo, foram utilizadas 24 vacas da raça Jersey, com peso médio de 400 kg, em segunda lactação, 50 dias de lactação, com idade média de 36 meses e média de produção de leite de 22,05 kg/dia. Os animais foram submetidos a dois tratamentos: 0 mL/dia de TEO (CON) e 8 mL/dia de TEO (TEO; 423 g/kg de timol na MS), em delineamento inteiramente casualizado e alojados em baias individuais. No primeiro experimento o consumo e a digestibilidade da MS não foram afetadas pela utilização de TEO (média de 8,6 kg e 73,5%, respectivamente). Entre as variáveis do comportamento ingestivo, apenas o PP (parado em pé) diferiu com a inclusão da TEO (Linear, $P = 0,03$), onde os maiores valores foram observados nas maiores doses de TEO. A produção total de gás (mL/g MS) foi afetada quadraticamente pela adição de TEO ($P = 0,05$), com maiores volumes observados nos tratamentos CON e T8. Nenhum efeito do TEO foi observado nas concentrações de AGCC (ácidos graxos de cadeia curta), apenas tendência quadrática para N-NH_3 no rúmen com os maiores valores nos tratamentos com maior adição de TEO. A TEO também não afetou as variáveis sanguíneas avaliadas neste estudo. Já no experimento 2, o consumo de MS, a eficiência e a produção de leite não foram afetados pela suplementação de TEO ($P > 0,10$). Dentre os parâmetros qualitativos do leite, somente a Condutividade Elétrica (CE) tendeu a ser diminuída ($P = 0,07$), no tratamento de 8 mL ($5,12 \text{ mS/cm}$), observou-se também menor número de casos de mastite clínica e menor tempo de retorno a níveis aceitáveis de contagem de células somáticas após identificação e medicação no tratamento contendo TEO (2 casos e 4d vs 5 casos e 7d, respectivamente). Nos parâmetros sanguíneos, a ALT (alanina aminotransferase) tendeu a diminuir quando os animais foram suplementados com TEO ($P = 0,07$, redução de 12% em relação ao controle), a Interleucina 2 aumentou quando TEO foi utilizado ($P = 0,04$, aumento de 123% em comparação com o controle), enquanto a Interleucina 4 e a

Imunoglobulina G tenderam a aumentar ($P=0.07$, $P=0.09$, respectivamente) em função do tratamento com TEO, aumentando 128 e 5%, respectivamente. A suplementação com TEO também tendeu a aumentar os níveis de melatonina no leite ($P=0.08$), com maior valor para o TEO (63.94 contra 57,53 pg/mL do controle), além de aumentar significativamente os teores de timol no sangue e no leite ($P=0.02$ e $P<0.01$ respectivamente), com as maiores médias de 10.68 ng/mL no sangue e 30.03 ng/10 mL de leite, ambas para o TEO contra 6,76 ng/mL no sangue e 5,93 ng/10 mL de leite do controle. A infusão de até 8 mL / d de óleo essencial de tomilho não provoca efeitos nocivos sobre o ambiente ruminal e a saúde animal. No entanto, mais estudos devem ser realizados para investigar maiores dosagens de TEO em dietas para bovinos de corte. Já na suplementação de vacas da raça Jersey no terço inicial da lactação, 8 mL TEO/dia não prejudica o consumo e o desempenho produtivo, e tende a melhorar a resposta do sistema imune, auxiliando no controle da incidência de mastite e manutenção da saúde da glândula mamaria.

Palavras-chave: estabilidade ruminal, saúde ruminal, mastite, contagem de células somáticas, *Thymus vulgaris* L., timol, melatonina, produção orgânica

ESSENCIAL OIL OF THYME AS FEED SUPPLEMENTATION ON RUMINAL FERMENTATION, IMMUNE RESPONSE, MILK PRODUCTION AND QUALITY

ABSTRACT - The somatic cell count is the biggest challenge to improve milk quality, as it is related to the occurrence of mastitis and consequently to the use of antibiotics for its control, and losses to the agro-industrial milk chain. The search for alternatives to the use of antibiotics has been encouraging research in the area of medicinal plants. Therefore, the current study aimed to evaluate the effect of the inclusion of thyme essential oil (TEO) on the ruminal fermentation, immune response, milk production and quality in 2 experiments. In the first, four rumen-cannulated Nellore steers (700 ± 44 kg BW) were randomly distributed in a 4×4 Latin square design and received one of the experimental treatments: CON = control, without TEO; T2 = 2 mL/d TEO; T4 = 4 mL/d TEO; and T8 = 8 mL/d TEO. TEO's main compound was thymol, with 423 g/kg of thymol in DM. The animals were housed in individual semi-covered pens (9 m²) with individual feed bunks and waterers. Each experimental period lasted 21 days (14 d of adaptation and 7 d of data collection). In the second, 24 Jersey cows were used, with an average weight of 400 kg, second lactation, 50 d in milk, with approximately 36 months old and average milk production of 22.05 kg/d. The animals were subjected to two treatments: 0 mL/d TEO (CON) and 8 mL/d TEO (TEO; 423 g/kg thymol in DM), in a completely randomized design and housed in individual pens. In the first experiment, DM intake and digestibility were not affected by TEO addition (average of 8.6 kg and 73.5%, respectively). Among the variables of feeding behavior, only the SS (standing still) differed with the inclusion of TEO (Linear, $P = 0.03$), with higher values observed for higher doses of TEO. The total gas production (mL/g MS) was quadratically affected by the addition of TEO ($P = 0.05$), with higher volumes observed for CON and T8 treatments. No effect of TEO was observed on SCFA concentrations, but $\text{NH}_3\text{-N}$ in the rumen tended to change. TEO also did not affect blood variables (erythrogram, leukogram, metabolites and liver enzymes) evaluated in this study. In experiment 2, DM intake, efficiency and milk production were not affected by TEO supplementation ($P > 0.10$). Among the qualitative parameters of milk, only Electrical Conductivity (EC) tended to decrease ($P = 0.07$), in the treatment of 8 mL TEO (5.12 mS/cm). There was also a lower number of cases of clinical mastitis and shorter time to return to acceptable levels of somatic cell count after identification and medication in the treatment containing TEO (2 cases and 4 d vs 5 cases and 7 d, respectively). In blood parameters, ALT tended to decrease when animals were supplemented with TEO ($P = 0.07$, 12% reduction compared with control), Interleukin 2 increased when TEO was used ($P = 0.04$, 123% increase compared with control), while Interleukin 4 and Immunoglobulin G tended to increase ($P = 0.07$, $P = 0.09$, respectively) due to treatment with TEO, increasing 128 and 5%, respectively. Supplementation with TEO also tended to increase melatonin levels in milk ($P = 0.08$), with a higher value for TEO (63.94 versus 57.53 pg/mL for the control), in addition to significantly increasing the levels of thymol in the blood and in milk ($P = 0.02$ and $P < 0.01$ respectively), with the highest averages of 10.68 ng/mL in blood and 30.03 ng/10 mL of milk, both for TEO versus 6.76 ng/mL in blood and 5.93 ng/10 mL of control milk. The addition of up to 8 mL/d of thyme essential oil does not cause harmful effects on the rumen environment and to animal health.

However, further studies should be conducted to investigate higher doses of TEO in diets for beef cattle. In the supplementation of Jersey cows in the initial third of lactation, 8 mL TEO/d does not impair intake and productive performance, and tends to improve the immune system response, helping to control the incidence of mastitis and maintaining the health of the mammary gland.

Keywords: ruminal stability, ruminal health, mastitis, somatic cell count, *Thymus vulgaris* L., thymol, melatonin, organic production

LISTA DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO 1	
Table 1. Compilação de alguns resultados do uso de óleos essenciais em dietas para animais de produção.....	7
CAPÍTULO 2	
Table 1. Result of the Physical-chemical report of Thyme Essential Oil (<i>Thymus vulgaris</i> L.) used in the present experiment.....	36
Table 2. Chemical composition of concentrate and experimental diets.....	37
Table 3. Intake of DM and nutrients and total apparent digestibilities of DM and nutrients in feedlot Nellore cattle supplemented with increasing levels of thyme essential oil.....	38
Table 4. Feeding behavior and chewing activity of feedlot Nellore cattle supplemented with increasing levels of thyme essential oil.....	39
Table 5. Ruminal parameters and VFA production of feedlot Nellore cattle supplemented with increasing levels of thyme essential oil.....	40
Table 6. In vitro total gas, CH ₄ and CO ₂ production per g of incubated DM and per g of degraded DM from rumen fluid of feedlot Nellore cattle supplemented with increasing levels of thyme essential oil.....	41
Table 7. Blood parameters of feedlot Nellore cattle supplemented with increasing levels of thyme essential oil.....	42
CAPÍTULO 3	
Table 1. Physical-chemical composition of thyme (<i>Thymus vulgaris</i> L.) essential oil used in current trial.....	63
Table 2. Chemical and energy composition of experimental ingredients and diets.....	64
Table 3. Means, standard error of means (SEM) and P-values for DM and nutrient intake, milk yield and milk production efficiency of Jersey cows supplemented with thyme (<i>Thymus vulgaris</i> L.) essential oil.....	65

Table 4. Means, standard error of means (SEM) and P-values for milk quality parameters of lactating Jersey cows supplemented or not with thyme (Thymus vulgaris L.) essential oil.....	66
Table 5. Frequency of observation of somatic cell count of milk samples in percent from lactating Jersey cows supplemented or not with thyme (Thymus vulgaris L.) essential oil.....	67
Table 6. Means, standard error of means (SEM) and P-values for biochemical and hematological parameters of lactating Jersey cows supplemented or not with thyme (Thymus vulgaris L.) essential oil.....	68
Table 7. Means, standard error of means (SEM) and P-values for serum cytokines and immunoglobulins of lactating Jersey cows supplemented or not with thyme (Thymus vulgaris L.) essential oil.....	70
Table 8. Means, standard error of means (SEM) and P-values for melatonin, prolactin and thymol concentrations in milk and blood of lactating Jersey cows supplemented or not with thyme (Thymus vulgaris L.) essential oil.....	71

LISTA DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO 3	
Figure 1. Trial period scheme.....	72
Figure 2. Effect of thyme (<i>Thymus vulgaris</i> L.) essential oil supplementation on the average daily somatic cell count of milk from lactating Jersey cows during the experimental period.....	73
Figure 3. Average somatic cell count per treatment over 7 consecutive days after identification and treatment of clinical mastitis.....	74

CAPÍTULO 1 - Considerações gerais

INTRODUÇÃO

A produção mundial de leite em 2019 foi de aproximadamente 852 milhões de toneladas, das quais, aproximadamente 4,1% foram produzidas no Brasil, percentual que o colocou na sexta posição no ranking mundial de produção de leite segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, 2020), ficando atrás da Índia, União Europeia, Estados Unidos, China e Paquistão.

No levantamento divulgado pelo IBGE referente a 2018, aproximadamente 24,5 milhões de litros da produção foram adquiridos por estabelecimentos industriais sob inspeção sanitária (municipal, estadual ou federal), cerca de 72,3 % da produção total, mantendo a tendência de aumento do leite fiscalizado desde 2007 (IBGE, 2017). Essa maior fiscalização demonstra a preocupação da produção animal, que está cada vez mais direcionado para a qualidade do produto final, sem desconectar da produtividade.

Desta forma, a busca por qualidade, seja da matéria-prima ou do produto final, é o principal fator que tem impulsionado a melhoria da qualidade do leite produzido no Brasil (Santos, 2004), mesmo que ainda seja incipiente em relação a outros países, nos quais a preocupação com a qualidade dos produtos de origem animal já existe e continua aumentando (Monardes, 2004).

Porém, além de qualidade e quantidade, outras preocupações como: a segurança alimentar, preservação do meio ambiente, bem-estar animal e viabilidade econômica, fazem parte do novo cenário produtivo. Associado às novas exigências de mercado, o controle de resíduos de antibiótico está cada vez mais restritivo para exportação de leite como matéria prima, por acarretar numa série de problemas no processamento e na saúde pública, contribuindo para a maior preocupação dos consumidores com a segurança dos alimentos.

Neste cenário, a busca por alternativas ao uso de antibióticos vem incentivando pesquisas com plantas medicinais e países como o Brasil mostram vantagem pela grande riqueza em biota existente. Porém para que seja considerada alternativa oficial ao uso do antibiótico e liberado para comercialização, este produto deve apresentar efeitos comprovados e isenção de toxicidade (ANVISA, 2011).

Pesquisas com uso de fitoterápicos na produção animal ainda são em pequeno número, porém este apresenta crescimento e demanda principalmente para as áreas de sanidade e desempenho.

Entre as alternativas o Tomilho (*Thymus vulgaris* L.) tem despertado interesse dos pesquisadores, em função de seu potencial antimicrobiano significativo (Kalembe et al., 2002; Burt, 2004). Entretanto, os estudos que avaliam sua utilização na nutrição animal são escassos e na bovinocultura leiteira suas propriedades ainda são desconhecidas.

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do óleo essencial de tomilho sobre os parâmetros ruminais, bem como sobre o sistema imunológico, produção e qualidade do leite, e tentar avaliar uma dose que possa ser testada como alternativa no controle da mastite bovina.

CONCLUSIONS

The supplementation of Jersey cows in the early third of lactation with 8 mL TEO/d tends to improve immune system response, controlling the incidence of mastitis and maintaining mammary gland health without altering intake, productive performance and milk quality.

AKNOLEDGEMENTS

Authors thank São Paulo State University (FCAV/Unesp) for the institutional support, the São Paulo State Research Foundation (FAPESP) for the financial support (grant number: 2014/01212-4), and the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for the Ph.D. scholarship for the first author (Financial Code 001).

REFERENCES

- Aikman, PC, CK Reynolds, DE Beever. 2008. Diet digestibility, rate of passage, and eating and rumination behavior of Jersey and Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 91: 1103-1114.
- Asher, A, A Shabtay, A Brosh, H Eitam, R Agmon, M Cohen-Zinder, A Haim. 2015. “Chrono-functional milk”: The difference between melatonin concentrations in night-milk versus day-milk under different night illumination conditions. *Chronobiol Int.* 32: 1409-1416.

BRASIL. 2018. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 76. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 26 de novembro de 2018.

Brown, WC, AC Rice-Ficht, AC Estes, DM Estes. 1998. Bovine type 1 and type 2 responses. *Vet. Immunol. Immunopathol* 63: 45-55.

Campbell, A and A Neill, 2016. Melatonin-rich milk fortified with alpha s1 casein tryptic hydrolysate improves primary insomnia: a randomized placebo controlled trial. *Sleep Biol. Rhythms* 14: 351-360.

Dal Pozzo, M, DF Santurio, L Rossatto, AC Vargas, SH Alves, ES Loreto, J Viegas. 2011. Activity of essential oils from spices against *Staphylococcus* spp. Isolated from bovine mastitis. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 63: 1229-1232.

Dorman, HJD and SG Deans. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.* 88: 308-316.

Duarte, CM, PP Freitas, R Bexiga, 2015. Technological advances in bovine mastitis diagnosis. *J. Vet. Diagn. Invest.* 27: 665-672.

FDA, FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. 2013. Guidance for Industry #213: New Animal Drugs and New Animal Drug Combination Products Administered in or on Medicated Feed or Drinking Water of Food Producing Animals: Recommendations for Drug Sponsors for Voluntarily Aligning Product Use Conditions with GFI #209.

<https://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/GuidanceComplianceEnforcement/GuidanceforIndustry/UCM299624.pdf> (Accessed Sep. 28, 2018).

Fiori, GML, PS Bonato, MPM Pereira, SHT Contini, AMS Pereira. 2013. Determination of Thymol and Carvacrol in Plasma and Milk of Dairy Cows using Solid-Phase Microextraction. *J. Braz. Chem. Soc.* 24: 837-846.

Grigore, A, INA Paraschiv, S Colcery-Mihul, C Bubueanu, E Draghici, M Ichim. 2010. Chemical composition and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. volatile oil obtained by two different methods. *Roum. Biotechnol. Lett.* 15: 5436-5443.

Heikkilä, A-M, JI Nousiainen, S Pyörälä. 2012. Costs of clinical mastitis with special reference to premature culling. *J. Dairy Sci.* 95: 139-150.

Hardeland, R, SR Pandi-Perumal, B Poeggeler. 2007. Melatonin in plants-Focus on a vertebrate night hormone with cytoprotective properties. *Funct. Plant Sci. Biotechnol.* 1: 32-45.

Imelouane, B, H Amhamdi, JP Wathelet, M Ankit, K Khedid, A El Bachiri. 2009. Chemical composition of the essential oil of thyme (*Thymus vulgaris* L.) from Eastern Morocco. *Int. J. Agric. Biol.* 11: 205-208.

Jantan, I, W Ahmad, SNA Bukhari. 2015. Plant-derived immunomodulators: an insight on their preclinical evaluation and clinical trials. *Front. Plant. Sci.* 6: 655.

Jiménez, A, S Andrés, J Sánchez. 2009. Effect of melatonin implants on somatic cell counts in dairy goats. *Small Rumin. Res.* 84: 116-120.

Kaşıkçı, G, Ö Çetin, EB Bingöl, MC Gündüz. 2012. Relations between electrical conductivity, somatic cell count, California mastitis test and some quality parameters in the diagnosis of subclinical mastitis in dairy cows. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 36: 49-55.

Luchetti, F, B Canonico, M Betti, M Arcangeletti, F Pilolli, M Piroddi, C Laura, P Stefano, F Galli. 2010. Melatonin signaling and cell protection function. *FASEB J.* 24: 3603–3624.

Nörnberg, JL, J López, W Stumpf Junior, P B Costa, J Schafhäuser Junior. 2006.

Desempenho de vacas Jersey suplementadas com diferentes fontes lipídicas na fase inicial da lactação. *R. Bras. Zootec.* 35: 1431-1438.

Oliveira, HBN, F de P Leonel, SDJ Villela, AR Lobo Júnior, EC Guimarães, BT Santiago, JM de Carvalho, RJV de Resende, RP Araújo. 2014. Performance of lactating dairy cows fed diets containing mixtures of essential oils. *Rev. Bras. de Saúde Prod. Anim.* 15: 670-678.

Poza, JJ, M Pujol, JJ Ortega-Albás, O Romero. 2018. Melatonina en los trastornos de sueño. *Neurología.* -1254: 1-11.

Royano, SDP and RJ Reiter. 2010. Melatonin: Helping cells cope with oxidative disaster. *Free Radic. Res.* 2: 99-111.

Santos, MB, PH Robinson, P Williams, R Losa. 2010. Effects of addition of an essential oil complex to the diet of lactating dairy cows on whole tract digestion of nutrients and productive performance. *Anim. Feed Sci. Technol.* 157: 64-71.

Shook, G. E.; Schutz, M. M. 1994. Selection on somatic cell score to improve resistance to mastitis in the United States. *Journal of Dairy Science*, 77: 648-658.

Sordillo, LM and KL Streicher. 2002. Mammary Gland Immunity and Mastitis Susceptibility. *J. Mammary Gland. Biol. Neoplasia* 7: 135-146.

Spanghero, M, PH Robinson, C Zanfi, E Fabbro. 2009. Effect of increasing doses of a microencapsulated blend of essential oils on performance of lactating primiparous cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 153: 153-157.

Swinkels, JM. A Hilkens, V Zoche-Golob, V Krömker, M Buddiger, J Jansen, TJGM Lam. 2015. Social influences on the duration of antibiotic treatment of clinical mastitis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98: 2369-2380.

Taponen, S.; E Liski, A-M Heikkilä, S Pyörälä. 2017. Factors associated with intramammary infection in dairy cows caused by coagulase-negative staphylococci, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Corynebacterium bovis*, or *Escherichia coli*. *J. Dairy Sci.* 100: 493-503.

Tekbas, OF, R Ogur, A Korkmaz, A Kilic, RJ Reiter. 2008. Melatonin as an antibiotic: new insights into the actions of this ubiquitous molecule. *J. Pineal Res.* 44: 222-226.

USDA-APHIS. 2008. Antimicrobial Use on U.S. Dairy Operations, 2002 and 2007. https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/dairy/downloads/dairy07/Dairy07_is_AntibioticUse.pdf (Accessed Sep. 28, 2018).

Yang, F and X Li. 2015. Role of antioxidant vitamins and trace elements in mastitis in dairy cows. *J. Adv. Vet. Anim. Res.* 2: 1-9.