



O PAPEL DA INOVAÇÃO NO ENFRENTAMENTO DAS INCERTEZAS DA

# ***Bovino**cultura leiteira contemporânea*

ORGANIZADORES: Julio Viégas, Pamela Itajara Otto, Rogério Fôlha Bermudes, Tiago Antônio Del Valle



**M**  
MERIDA  
PUBLISHERS

## ORGANIZAÇÃO:



## REALIZAÇÃO:



## APOIO:



O papel da inovação no enfrentamento  
das incertezas da bovinocultura leiteira  
contemporânea

Julio Viégas

Pamela Itajara Otto

Rogério Fôlha Bermudes

Tiago Antônio Del Valle

(Orgs.)

Canoas

2021



# O papel da inovação no enfrentamento das incertezas da bovinocultura leiteira contemporânea

© 2021 Mérida Publishers

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-84548-00-8>

## Organizadores

Prof. Julio Viégas

Prof<sup>a</sup>. Pamela Itajara Otto

Prof. Rogério Fôlha Bermudes

Prof. Tiago Antônio Del Valle

Beatriz dos Santos Nemoto

Bruna Zart

Derly Mello

Isabela Maraschin Vieira

João Augusto Rubin Rosback

Keyse Tubino

Larissa Bordin Temp

Larissa Luísa Schumacher

Stela Naetzold Pereira

Tiago João Tonin

Vitória Mendonça da Silva

## Adaptação da capa e desenho gráfico

Luis Miguel Guzmán

## Foto da capa

[pinterest.com](https://www.pinterest.com)



Canoas - RS - Brasil

[contact@meridapublishers.com](mailto:contact@meridapublishers.com)

[www.meridapublishers.com](http://www.meridapublishers.com)

Todos os direitos autorais pertencem a Mérida Publishers. A reprodução total ou parcial dos trabalhos publicados, é permitida desde que sejam atribuídos créditos aos autores.



### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

P214 O papel da inovação no enfrentamento das incertezas da bovinocultura leiteira contemporânea / Organizadores Julio Viégas... [et al.]. – Canoas, RS: Mérida Publishers, 2021.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-84548-00-8

1. Agronegócio. 2. Bovinos de leite. 3. Pastagens. 4. Leite – Produção. I. Viégas, Julio. II. Otto, Pamela Itajara. III. Bermudes, Rogério Fôlha. IV. Valle, Tiago Antonio Del.

CDD 637.1

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

## Prefácio

A atividade leiteira tem passado por inúmeras mudanças que impactam enormemente o nível de produção e a produtividade dos rebanhos, trazendo novos desafios aos produtores a fim de se manterem na cadeia produtiva. Os desafios são inúmeros, não somente pela atual situação causada pela pandemia de COVID-19, mas também vinculados aos crescentes aumentos dos custos de produção em função da valorização dos insumos agrícolas. Muitos são os fatores que determinam este cenário, e que afetam, negativamente, a produção de leite brasileira, como a alta do dólar e o valor do barril de petróleo, situações que na verdade não surpreendem os atores da atividade leiteira, pois estão constantemente presentes no dia-a-dia há décadas.

Desta forma o produtor de leite necessita, urgentemente, produzir cada vez maiores volumes de leite, mas, sobretudo, produzir de forma mais eficiente. Por vezes, essa exigência colocada sobre as vacas transforma-se em fatores de estresse, com efeito contrário ao pretendido. Neste sentido, a eficiência técnica associada ao bem-estar dos animais configura-se em um desafio duplo, sobre o qual o produtor não pode se furtar em ser vigilante.

A tendência de redução do rebanho leiteiro brasileiro, observada nos últimos anos, segue uma tendência mundial, de concentrar a produção em animais mais eficientes. Apesar desta situação causar um impacto potencialmente positivo sobre a sustentabilidade dos sistemas e sobre o meio-ambiente, representa, ao mesmo tempo, um problema social, com a saída de inúmeras famílias de produtores da cadeia leiteira. Estima-se que, entre 2014 e 2019, aproximadamente 7 milhões de vacas saíram da cadeia produtiva. Em termos de propriedades, foi observado que entre o Censo Agropecuário de 2006 e de 2017, 175 mil produtores abandonaram a atividade, considerando produtores formais e informais. No mesmo período, 297 mil propriedades deixaram de comercializar o leite produzido para as empresas de beneficiamento, o que pode representar um risco potencial de saúde pública.

Esta intensificação da produção não, necessariamente, passa por uma ideia de produção baseada no confinamento dos animais. O Brasil apresenta uma grande gama de sistemas de produção e, graças a isto, possui uma

flexibilidade de adequação aos diferentes biomas nacionais e cenários socioeconômicos nacionais e também mundiais, que podem contribuir com a fixação do produtor rural no campo, desde que as condições para a produção mais eficiente sejam viabilizadas.

O presente livro é uma coletânea de palestras apresentadas por profissionais altamente qualificados de diferentes partes do Brasil e do mundo, apresentadas no Simpósio Internacional da Pecuária Leiteira (SIPEL) 2021. Este evento foi uma realização conjunta da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). O SIPEL foi organizado pelos seguintes grupos de pesquisa: Grupo de Estudo em Aditivos na Produção Animal (GEAPA-UFSM), Grupo de Melhoramento Animal (GMA-UFSM), Grupo de Pesquisa e Extensão em Nutrição de Ruminantes (NUTRIRÚMEN-UFPEL), Laboratório de Bovinocultura Leiteira (LABLEITE-UFSM) e TechVet Junior (UFSM). Vários professores, estudantes e técnicos de nível superior destes grupos não mediram esforços para que o evento fosse pleno de sucesso. Esperamos que todos usufruam das informações e conhecimento ora apresentados.

Boa leitura!

Prof. Julio Viégas

Profa. Pamela Itajara Otto

Prof. Tiago Antônio Del Valle

Prof. Rogério Fôlha Bermudes

## Índice

### SEÇÃO 1. Nutrição e forragicultura

#### **CAPÍTULO 1 ..... 10**

##### **En el camino de dar certezas: el papel de los ensilajes como fuente de fibra de alta calidad**

Cecilia Cajarville, José Luis Repetto

#### **CAPÍTULO 2 ..... 26**

##### **Factors affecting the nutritive value and fermentation of high-moisture corn**

Ben Saylor, Luiz Ferraretto

#### **CAPÍTULO 3 ..... 42**

##### **Computer vision and image analysis in livestock production**

João R. R. Dorea, Guilherme J. M. Rosa, Arthur F. A. Fernandes, Tiago Bresolin

### SEÇÃO 2. Sanidade do rebanho leiteiro

#### **CAPÍTULO 4 ..... 61**

##### **Doenças metabólicas – o que acontece com o leite destas vacas?**

Ricardo Xavier da Rocha

#### **CAPÍTULO 5 ..... 73**

##### **Como utilizar os resultados de cultura na fazenda para reduzir custos com mastite e melhorar estratégias de controle da mastite?**

Cristian Marlon de M. R. Martins, Ananda Finco Raposo Franco, Ana Carolina Meireles, Brunna de Mattos Granja, Giulia Soares Latosinski

#### **CAPÍTULO 6 ..... 89**

##### **Atualizações sobre a apara funcional e corretiva (casqueamento) dos bovinos**

Glauber de Oliveira Melo, Gabriela Alves Reis, Bruna Stanigher Barbosa, Ronaldo Gomes Gargano, Fabio Celidonio Pogliani

## SEÇÃO 3. Reprodução e melhoramento genético animal

### **CAPÍTULO 7 ..... 107**

#### **Estresse térmico: desafios e perspectivas para seleção na raça Girolando**

Renata Negri, Darlene Daltro, Sabrina Kluska, Pamela Itajara Otto, Luiz Sergio De Almeida Camargo, Marcos Vinícius G. Barbosa da Silva

### **CAPÍTULO 8 ..... 129**

#### **Forma e função de uma vaca leiteira**

Fabio Nogueira Fogaça

### **CAPÍTULO 9 ..... 145**

#### **Impacto dos nutracêuticos no desempenho reprodutivo de bovinos**

Diego Andres Velasco-Acosta

# **SEÇÃO 1**

---

**Nutrição e forragicultura**

## CAPÍTULO 1

---

### **En el camino de dar certezas: el papel de los ensilajes como fuente de fibra de alta calidad**

Cecilia Cajarville, José Luis Repetto

Los sistemas lecheros de nuestra región, aún los más intensivos, han pasado en términos generales por un proceso de intensificación. Aun así, continúan empleando mayoritariamente dietas forrajeras, cualquiera sea el criterio que utilicemos para catalogarlas como tales. A pesar de que muchos establecimientos apuestan a elevadas producciones individuales, los forrajes representan más del 60% del total de la materia seca (MS), la fibra neutro detergente (FND) forrajera representa no menos del 0.9% del peso vivo (PV) del animal o constituye no menos del 25 % de la dieta, todas posibles definiciones de dietas forrajeras internacionalmente aceptadas (CHASE; GRANT, 2013). Es previsible, por otra parte, que este tipo de dieta siga siendo la predominante en los sistemas lecheros del cono sur, tanto por el impacto positivo sobre el costo final de la alimentación como sobre la salud digestiva del rodeo y de los componentes de la leche que se produce.

Hoy contamos con precios internacionales beneficiosos para la leche, y en Uruguay, a pesar de los efectos negativos de la pandemia en la mayoría de las actividades, la lechería volvió a producir a los más altos niveles. El grupo de explotaciones lecheras exitosas en nuestro país es heterogéneo en varios aspectos. Así, son variables en tamaño, cantidad de concentrado en la dieta o en el nivel de infraestructura con que cuentan. En lo que todos los tambos que mantienen un crecimiento sostenido se parecen, es en el alto nivel de productividad y en la elevada utilización de alimentos producidos en el propio establecimiento (FARIÑA; CHILIBROSTE, 2019). Según estos mismos autores, los tambos que más han crecido en producción en el último período (2013-2017) cosecharon 3200 kg de MS/ha /año más respecto a los que les ha ido peor. A su vez, los de mayor crecimiento han consumido un 50% más de pastura, un 60%

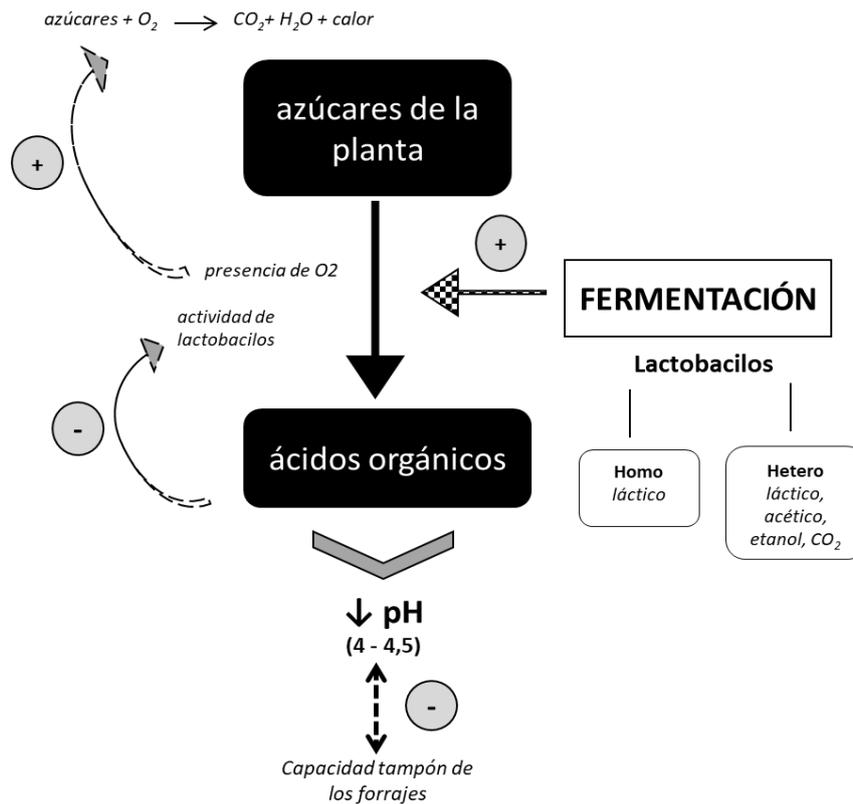
más de concentrado y un 80% más de reservas, respecto a los de crecimiento negativo acentuado. Se observa entonces, el papel preponderante que han tenido las reservas en el crecimiento de los tambos.

Todo lo anterior implica que los animales dispongan permanentemente de alimentos acordes a las necesidades y en este contexto, es central el rol de las reservas de forraje. Las reservas aportan certezas en el sistema productivo. Permiten que las vacas tengan asegurada la fibra durante todo el año y son una herramienta fundamental para hacer consumir adecuadamente la pastura, ya que permiten organizar los pastoreos. Un desafío extra para lograr altos niveles de producción es que además de cantidad, las reservas aporten calidad. Un alto nivel de producción es impensable sin altos niveles de ingestión, para lo que la fibra de alta calidad es indispensable. Debemos tener en cuenta que, cuando de sistemas forrajeros de alta producción se trata, el aporte de energía no vendrá sólo de los suplementos, o de los granos que contienen los ensilajes de cereales. Cada vez más es necesaria la fibra de buena calidad para sostener las producciones.

Este material tiene por objeto revisar algunos aspectos que consideramos clave en el proceso de obtener forrajes ensilados de alta calidad. En primer lugar, debemos recordar que la calidad de cualquier ensilado depende básicamente de dos factores: 1) el valor nutritivo del forraje original, que está determinado por las especies predominantes en el cultivo, y sobre todo por el estado de maduración y 2) de la conservación, lo cual implica la existencia de un proceso de fermentación controlado y las condiciones de almacenamiento posteriores adecuadas.

## **1. El proceso de ensilaje**

El ensilaje consiste en la conservación del forraje en forma húmeda por fermentación. Esta se produce gracias a determinados microorganismos (lactobacilos) que se encuentran latentes en el forraje y producen ácidos orgánicos (principalmente láctico) a partir de sus azúcares. Estos ácidos son responsables de la disminución de pH, mecanismo por el cual se conserva el material (Figura 1).



**Figura 1.** Representación esquemática del proceso de fermentación durante el ensilado de forrajes.

A continuación, describiremos el proceso con más detalle. Este es el mismo independientemente de que se trate de ensilajes propiamente dichos o henolajes (ensilajes con menor humedad, los más comunes son los “silopacks”), y que la estructura del silo sea tipo torre, trinchera, bunker, torta o silos embolsados en forma de “silobag”. Dentro del proceso de ensilaje se diferencian las siguientes etapas una vez que el forraje fue cortado e introducido en el silo (WILKINSON; DAVIS, 2012):

**La fase inicial aeróbica:** Durante esta primera fase, que comienza con el corte del forraje, actúan las enzimas de la planta (proteasas, carbohidrasas) que todavía están activas. La planta sigue respirando, lo que implica el uso de los carbohidratos solubles para producir CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O, en un mecanismo que necesita de la presencia de oxígeno y que genera calor. El aumento de temperatura puede llevar a que se produzcan reacciones de Maillard o amarronamientos

enzimáticos en los ensilajes (GARCÍA *et al.*, 1989) que se acompañan desde el punto de vista analítico, con un aumento en el contenido de N insoluble en fibra ácido detergente (NIDA) (VAN SOEST; MASON, 1991). Una vez que se introdujo el forraje en el silo, la presencia de oxígeno residual permite la acción de microorganismos aerobios facultativos, levaduras y enterobacterias. Otro evento importante durante esta fase es que la actividad de las proteasas vegetales que destruyen las estructuras proteicas de la planta, con la consecuencia negativa de la solubilización de las proteínas y la producción de amoníaco (AUFRÉRE *et al.*, 1994; BOLSEN *et al.*, 1996; REPETTO *et al.*, 2005; CAJARVILLE *et al.*, 2012). Esta fase, que dura horas, puede ser responsable de una parte importante del deterioro del ensilaje, por lo que es deseable que transcurra en forma rápida. Su finalización depende de que se produzca la ausencia de oxígeno y la bajada del pH en el silo, ya que las enzimas necesitan para actuar que el pH del medio no sea menor a 6 (ELFERNIK *et al.*, 2000).

**La fase de fermentación:** Luego de la fase inicial, la fase de fermentación propiamente dicha se desarrolla en un medio anaerobio (en ausencia de oxígeno). En esta etapa se dan reacciones catabólicas de oxidación incompleta, en las que participan bacterias lácticas, que oxidan parcialmente los carbohidratos solubles del vegetal, obteniendo de ellos energía, dando como producto final ácido láctico (MCDONALD *et al.*, 2006). Es importante recordar, que los sustratos que utilizan estas bacterias son los carbohidratos solubles (del tipo de los azúcares), y no carbohidratos complejos como los almidones. Debido a la producción de ácidos durante la fermentación el pH baja, lo que impide el desarrollo de los microorganismos, permitiendo así la conservación del material. Este proceso tiene una duración variable (entre 7 a 21 días). La humedad lo favorece, y se enlentece cuando ésta disminuye por debajo del 50% (BOLSEN *et al.*, 1996). A su vez, cuando la temperatura ambiente es baja, la fermentación es más lenta, ya que la mayoría de las bacterias ácido lácticas que actúan en el proceso de ensilaje tienen un rango óptimo de crecimiento entre los 25 y los 40 °C (ELFERNIK *et al.*, 2002). La fase de fermentación finaliza cuando la producción de ácido láctico y de otros ácidos orgánicos es suficiente para disminuir el pH hasta 3.8 - 4, o cuando se acaban los carbohidratos solubles que son sustrato para los microorganismos fermentativos. Lógicamente, en este

proceso la microbiota del silo tiene un rol fundamental. Se distinguen dentro del silo diversos grupos de poblaciones microbianas, siendo las poblaciones de ***Lactobacilos*** (LAB), las responsables de desarrollar la fermentación láctica. Pertenecen a diversos géneros: *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*. Son aerobios facultativos, aunque tienen un crecimiento mayor en condiciones de anaerobiosis (BOLSEN *et al.*, 1996) y son muy eficientes en bajar el pH. Como veremos, parece ser que las poblaciones naturales son muy variables y dependientes de distintos factores, como la especie vegetal o su estado fenológico, condiciones que obviamente condicionarán los productos finales de la fermentación, afectando el resultado final (YANG *et al.*, 2010; PANG *et al.*, 2011). Dentro de las bacterias LAB se distinguen las homofermentativas, como el *P. damnosus* y el *L. ruminisque* que producen ácido láctico a partir de hexosas como la glucosa (MUCK, 2011) pero no degradan pentosas como la xilosa (ELFERNIK *et al.*, 2002) y las heterofermentativas, como el *L. buchneri* que degradan tanto hexosas como pentosas, y además del ácido láctico producen ácido acético, etanol y CO<sub>2</sub>. A su vez, estas últimas, pueden fermentar el láctico, produciendo acético y CO<sub>2</sub> a partir de él (ELFERNIK *et al.*, 2002; MUCK, 2011). Como veremos, a las heterofermentativas en los últimos años se les está dando importancia, debido a que pueden contribuir con la estabilidad aeróbica de los ensilajes, o sea con la conservación de las cualidades del material una vez extraído del silo

Además de la biota responsable de la fermentación, existen en los materiales vegetales cantidad de microorganismos indeseables, que bajo determinadas condiciones pueden proliferar en esta fase o en las siguientes. Según Muck (2010), las ***levaduras***, que producen etanol, son los microorganismos más importantes que controlar, y las condiciones de bajo pH favorecen su crecimiento. Las levaduras crecen a expensas de los azúcares y del ácido láctico, y son controladas por el ácido acético (ELFERNIK *et al.*, 2000). Las ***Enterobacterias*** son anaerobias facultativas y aunque en su gran mayoría no son patógenas, compiten con las LAB por los sustratos. Además, las Enterobacterias degradan proteínas, produciendo aminas biogénicas y ácidos grasos ramificados que reducen la palatabilidad de los silos y aumentan las pérdidas por óxido nitroso (MUCK, 2011; ELFERNIK *et al.*, 2002). El descenso rápido de pH ayuda a combatir estas bacterias, dado que no proliferan en

ambientes ácidos (MCDONALD *et al.*, 1991). Otros microorganismos que inhiben son los ***Clostridios***. Además de los potenciales problemas para la salud que podrían causar algunos tipos de Clostridios, su importancia en los ensilajes es la fermentación butírica que producen a partir de ácido láctico, que reduce la calidad. Adicionalmente, estos microorganismos pueden interferir con el proceso de producción de derivados lácteos, principalmente de quesos (ELFERNIK *et al.*, 2000). Al igual que las Enterobacterias, los Clostridios se inhiben con niveles bajos de pH, y es muy importante que estos niveles se den rápidamente. En este sentido, Leibensperger y Pitt (1987) demostraron las posibles interacciones que pueden darse entre los contenidos en humedad de los materiales a ensilar, la bajada del pH y el crecimiento de Clostridios. Estos autores evaluaron la evolución del pH según los contenidos en materia seca (MS) del material original en ensilajes de gramíneas y de alfalfa. A medida que los contenidos de MS se incrementaron por encima de 25-30%, el pH fue más difícil de bajar, favoreciendo el crecimiento de los Clostridios, y esto fue especialmente dramático cuando el cultivo era alfalfa. En general, dentro de ciertos márgenes, cuanto menor humedad tiene el material, más demora el pH del silo en bajar a valores de 4. Otro microorganismo potencialmente patógeno que puede proliferar cuando las condiciones de anaerobiosis y la bajada de pH no son suficientes, es la ***Listeria monocytogenes*** (BOLSEN *et al.*, 1996). En general es reconocido que un bajo pH es suficiente para controlar este microorganismo. Sin embargo, Donald *et al.* (1995) observaron *Listeria* en ensilajes con pH correctos (4.2), pero con una fermentación restringida, sugiriendo que los productos de la fermentación en sí mismos (ácido láctico) y no sólo el pH, son determinantes para controlar estas poblaciones microbianas patógenas.

**La fase estable del silo:** Una vez que la fermentación se detuvo, esta fase se caracteriza por una muy baja actividad, siempre y cuando el silo haya sido bien cerrado y la bajada de pH suficiente. A pesar de la estabilidad, en esta fase se producen cambios en la degradación de las fibras. Especialmente las hemicelulosas pueden ser degradadas y transformadas en carbohidratos solubles (MORRISON, 1979; BOLSEN *et al.*, 1996; PEYRAT *et al.*, 2014). En esta fase es muy importante la permeabilidad del material con que el silo fue tapado. Materiales permeables pueden llevar al ingreso de oxígeno, con la

consiguiente proliferación de microorganismos aerobios facultativos como levaduras y hongos, e incluso patógenos como la *Listeria*.

**Fase de extracción del material del silo:** Esta fase comienza cuando el silo se abre para ser suministrado, ya que a partir de su apertura se da un ingreso irrestricto de oxígeno. En los últimos años, esta etapa ha focalizado la atención. Las pérdidas en esta etapa pueden ser muy importantes y de magnitud similar a las que ocurren en las 2 fases anteriores (WILKINSON; DAVIES, 2012). Al abrir el silo los microorganismos aerobios consumen los nutrientes solubles remanentes en el material, así como los propios productos de la fermentación (ácido láctico, ácido acético), que son transformados masivamente en CO<sub>2</sub>, agua y calor.

Por lo tanto, el arte del ensilaje consiste en controlar la actividad microbiana a través de 3 factores principales: el medio anaerobio, el bajo pH y el perfil de ácidos derivados de la fermentación. Las tres condiciones son imprescindibles y deben darse en simultáneo para que el silo se convierta en un alimento de alto valor (Muck, 2010 y 2011).

### **¿En qué consiste el control de la fermentación del silo?**

Una particularidad del ensilaje es que se desarrolla en un medio húmedo. A diferencia de lo que ocurre con otros métodos de conservación, en el silo pueden desarrollarse muchas poblaciones de microorganismos, en su mayoría potenciales consumidores del alimento que queremos conservar. A modo de ejemplo, en un trabajo de nuestro equipo en el que se evaluaba la fermentación ruminal de una serie de praderas con sus respectivos ensilajes, Britos *et al.* (2007) observaron que los silos eran menos fermentables, y que su fermentación era más lenta que el correspondiente forraje fresco. Esto puede explicarse por la pérdida de los azúcares que fueron utilizados por los lactobacilos durante el proceso de ensilaje. Sin embargo, hay suficiente información como para sostener que, además de los azúcares, la fibra de alta calidad es otro de los componentes que se perderían en los materiales ensilados, como veremos a continuación.

Uno de los efectos reportados consistentemente es el aumento de concentración de fibra en los forrajes ensilados. Esto se vincula a la pérdida de los nutrientes más fermentables (como los azúcares que se utilizan en el proceso

de fermentación) y solubles (como proteínas y otros componentes solubles que se pierden por efluentes).

Deberíamos considerar, además, que la fibra remanente en el silo es la de peor calidad. Repetto *et al.* (2011) observó una disminución de la degradabilidad de la fibra neutro detergente (FND) de ensilajes de alfalfa confeccionados con materiales de alta calidad y que podrían catalogarse como de buena fermentación. En otro trabajo del mismo grupo, Cajarville *et al.* (2012), evaluando ensilajes de pasturas, observaron que aún en ensilajes con buena calidad de conservación, la degradabilidad ruminal de la FDN disminuye, impactando esto en forma negativa en la digestibilidad de la materia seca. Stirling *et al.* (2021) evaluando forraje de avena recién cortada y ensilada en diferentes estados de maduración, observaron que la degradabilidad ruminal de la fibra se redujo en promedio un 17%, llevando a disminuciones de la degradabilidad de la materia seca, aún en estados en que la avena contenía almidón que aportaba el grano. Combs (2013) reporta en un trabajo realizado en base a 142 observaciones, que los valores medios de digestibilidad de la FND para gramíneas y leguminosas son mayores que para ensilajes de maíz y sorgo (47 vs 40%), aunque los primeros presentaron una variación muy alta (30 a 66 %). La situación a nivel local no parece diferir de los resultados de este trabajo, al menos en lo que refiere a la variabilidad que se observa expuesto. Guidi (2020), evaluando silos de cultivos de invierno y de praderas (gramíneas y leguminosas) realizados por productores de Uruguay reporta que tanto la digestibilidad de la materia seca como de la fibra fueron en promedio más altos para ensilajes de pradera. Sin embargo, estos últimos fueron mucho más variables en digestibilidad y presentaron también mayor cantidad de silos con calidades microbiológicas malas de acuerdo con el recuento de esporas butirógenas del género *Clostridium*. Lo anterior hace pensar que hay un margen de mejora muy interesante en la confección de silos de pradera.

Las principales herramientas para controlar la fermentación son las del cuidado de cada paso en la elaboración. Tener en cuenta que será imposible lograr un forraje de calidad sin el control de la higiene, la rapidez en el proceso de compactación, el tapado del material y el cuidado de su integridad a lo largo del tiempo. Los aditivos pueden colaborar en este proceso, aunque es importante señalar que en ningún caso sustituyen los cuidados anteriores.

## 2. Posibles aditivos para ensilar

Los aditivos para ensilar son sustancias que se agregan en pequeñas cantidades al forraje en el momento de la elaboración del silo con el objetivo de mejorar el proceso fermentativo o facilitar la conservación (GORDON, 1989; HENDERSON, 1993) y constituyen una herramienta muy útil cuando se trata de mejorar las condiciones de fermentación de ensilajes como los que se describieron en el ítem anterior. De todas formas, es importante tener en cuenta que, dependiendo de la situación, el aditivo seleccionado puede tener mayor o menor efectividad. Veamos entonces las características principales de los distintos aditivos. Clásicamente los clasificamos en estimulantes de la fermentación (inoculantes microbianos, enzimas y sustratos) y en inhibidores de la fermentación (ácidos orgánicos y otros).

**Estimulantes de la fermentación:** estimulan la proliferación de bacterias lácticas. Pueden ser inoculantes microbianos, enzimas o sustratos. Dentro los inoculantes microbianos los más comúnmente utilizados son los ***lactobacilos homofermentativos*** como *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus*, *Pediococcus acidilactici*, *P. pentacaceus*, o *Enterococcus faecium* (WEINBERG; MUCK, 1996). En general, la adición de este tipo de inoculantes parece ser más efectiva en silos de leguminosas y gramíneas que en silos de maíz, ya que los cultivos de los primeros son malas fuentes de bacterias ácido-lácticas, y/o las cepas presentes en ellos no son las más adecuadas para actuar durante la fermentación (MC DONALD *et al.*, 2006; PANG *et al.*, 2011). Su adición lleva a ensilajes con menor pH, y menores niveles de ácido acético, butírico y amonio, incrementándose el contenido en ácido láctico, la conservación de la MS, e incluso los rendimientos productivos en animales (consumo, ganancia de peso y producción de leche), aunque ello no siempre está acompañado por cambios detectables en la composición química (KUNG, 2001). Muck *et al.* (2007), estudiando el efecto del uso de inoculantes en ensilajes de alfalfa, concluyen que los silos inoculados tuvieron mejor desempeño en cuanto a fermentación ruminal, incluso cuando no se observaron efectos importantes en indicadores de fermentación. Contreras-Govea *et al.* (2011), trabajando con 4 inoculantes comerciales en cultivos de alfalfa y maíz, comunican que, si bien no se encontraron efectos en cuanto a la fermentación de los materiales, los silos con

inoculante utilizados como sustrato mostraron mayor crecimiento de masa microbiana ruminal cuando se evaluaron en pruebas *in vitro*. Los autores atribuyen estos resultados a una mejor conservación de la proteína original y a un efecto directo sobre los microorganismos ruminales. Asimismo, en un estudio realizado a partir de 14 experimentos europeos y estadounidenses, Moran y Owen (1994), reportaron diferencias significativas en grupos alimentados con ensilajes de maíz, gramíneas y alfalfa tratados en producción de leche (más del 4%), que se explicarían por un aumento del consumo de alimentos cercano al 5%. Últimamente se ha extendido el uso de **microorganismos heterofermentativos**, como el *Lactobacillus buchneri* y la *Propionibacteria* que además de ácido láctico producen ácido acético, que inhibe los hongos, lo que hace a este tipo de inoculantes eficientes en prolongar la estabilidad aeróbica de los materiales ensilados una vez extraídos del silo (WEINBERG *et al.*, 2002; FILYA, 2003).

Mientras tanto, la adición de enzimas tendría una doble función: la de aumentar los sustratos disponibles para las bacterias ácido-lácticas y la de mejorar el valor nutritivo de los materiales originales. Las más utilizadas son celulasas, hemicelulasas y amilasas. Los resultados son variables y al igual que en el caso de los inoculantes se comunican mejores resultados en leguminosas que en ensilajes de maíz (KUNG, 2001), y especialmente parecen ser más efectivas cuando se agregan a pasturas de alta calidad (MCDONALD *et al.*, 2006). Las enzimas pueden utilizarse asociadas con los microorganismos, y de hecho muchos aditivos comerciales, asocian inoculantes con enzimas. Sin embargo, algunos trabajos indican que los resultados más promisorios en el uso de enzimas no estarían dados por la mejora durante el proceso fermentativo, sino en el momento del suministro. En este sentido, el agregado de enzimas en aspersión sobre el material al momento del suministro tendría efectos positivos detectables en producción de leche (SANCHEZ *et al.*, 1996) y en ganancia de peso en ganado de carne (BEAUCHEMIN *et al.*, 1995).

Los aditivos denominados sustratos se adicionan durante la elaboración del silo a los efectos de proporcionar nutrientes a los lactobacilos. Dentro de esta categoría, la melaza de caña es el más tradicionalmente usado (HENDERSON, 1993) y puede considerarse como un aditivo de referencia. Desde hace mucho tiempo se considera, a partir de estudios realizados por Salisbury *et al.* (1949)

con cultivos mixtos de bacterias presentes en el ensilaje, que la sucrosa (principal azúcar de la melaza) es el más efectivo en cuanto a producción de ácidos. En un trabajo reciente, Hashemzadeh-Cigari *et al.* (2014), adicionando melaza a alfalfa premarchitada, comunican que, si bien no se observó ninguna mejora en los parámetros de la fermentación de los ensilajes, los tratados mostraron una mayor estabilidad aeróbica en el tiempo. El suero de queso, subproducto de la industria láctea, puede ser un buen aditivo dado su elevado contenido de lactosa (63–70 % base MS), carbohidrato que es un excelente sustrato para la proliferación de bacterias ácido-lácticas (ARCHIBALD, 1953; DASH *et al.*, 1974). Nuestro grupo ha investigado el uso de este aditivo. El suero de queso que se genera en queserías pequeñas o en establecimientos que elaboran queso artesanal muchas veces se desecha, siendo un contaminante potencial importante, con alta demanda bioquímica de oxígeno, pero que a la vez es un producto que pero que bien empleado es de muy alta calidad. Britos *et al.* (2007), trabajando con ensilajes de pradera de buena calidad, observaron que la adición de suero de quesería mejoró la capacidad fermentativa en el rumen de los ensilajes de pasturas. Cajarville *et al.* (2012), comunicaron mejoras en la degradabilidad ruminal de silos de pradera tratados con suero en comparación a los sin tratar. En ambos trabajos se señala que las cantidades a utilizar estarían limitadas por el alto contenido en agua del suero si se utiliza fresco, siendo adecuados niveles de inclusión del 2% al 5% si se trabaja con forrajes sin premarchitar. En otro trabajo, estudiando cultivos de alfalfa pura, Repetto *et al.* (2011), concluyen que la adición de suero provocó un efecto positivo sobre el ensilaje en lo que respecta tanto a la conservación como a su valor nutritivo. Los silos con suero tuvieron menor pH, a lo que se agregó la protección de las fracciones de la proteína y de la fibra de buena calidad que contenía el material original. Esto último, la protección de las fracciones degradables de la fibra, es un aspecto central en la calidad nutritiva del producto final. En general, en esta serie de trabajos se comprobaron efectos positivos del agregado de suero de quesería fresco como aditivo.

**Inhibidores de la fermentación:** lo que se busca con el agregado de inhibidores de la fermentación es impedir el crecimiento de los microorganismos no deseados (KUNG, 2001). Los más comúnmente utilizados son los ácidos

propiónico, cítrico, benzoico y en el pasado el ácido fórmico y el formaldeído (MCDONALD *et al.*, 2006; KUNG, 2001). Manejando adecuadamente las dosis se puede lograr un control sobre las levaduras sin interferir con el proceso fermentativo del silo. Al igual que en el caso de las enzimas, en ocasiones se utiliza en el momento de suministrar el alimento en el comedero, pero en este caso, según Kung (2001), el resultado no sería tan efectivo en el control de levaduras.

### **3. En definitiva, si queremos certezas...**

En definitiva, como fue comentado con anterioridad se puede pronosticar un crecimiento importante en el uso de reservas de forraje en general y de los ensilajes en particular, en los sistemas lecheros de nuestra región, con niveles crecientes de productividad. Se debe considerar que el proceso de intensificación se asocia a costos crecientes del material original (cultivos, implantación de pasturas, etc.) y del proceso de elaboración de las reservas y silos. Podremos superar la carga de estos incrementos con una mejora paralela en la calidad de dichos ensilajes. El desafío de manejar la conservación de un material vegetal de alto valor nutritivo, en condiciones de alta humedad a través de un proceso de fermentación controlada no es menor. Existen, sin embargo, herramientas biotecnológicas, que, utilizadas en conjunto, con un adecuado manejo, garantizan la obtención de un producto final de calidad. Los técnicos que trabajan en producción animal hoy tienen el desafío de utilizar estas herramientas con solvencia. Esperamos que esta entrega pueda aportar en ese sentido.

### **4. Referências**

ARCHIBALD, J.G. Sugars and acids in grass silages. **Journal of Dairy Science**, v. 36, p. 385–390, 1953.

AUFRÈRE, J. *et al.* Characterisation of in situ degradation of lucerne proteins according to forage type (green forage, hay and silage) using gel electrophoresis. **Animal Feed Science and Technology**, v. 50, p. 75–85, 1994.

BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L.M.; V. J. H. Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 75, p. 641-644, 1995.

BOLSEN, K. K.; ASHBELL, G.; WEINBERG, Z. G. Silage fermentation and silage additives. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v. 9, p. 483-493, 1996.

BRITOS, A. *et al.* Efecto del suero de queso como aditivo de ensilajes de pastura sobre la conservación, los azúcares solubles y la producción de gas *in vitro*. **Agrociencia**, v. 11, p. 72-77, 2007.

CAJARVILLE, C. *et al.* Temperate forages ensiled with molasses or fresh cheese whey: Effects on conservation quality, effluent losses and ruminal degradation. **Animal Feed Science and Technology**, v. 171, p. 14-19, 2012.

CHASE, L.E.; GRANT R. J. High Forage Rations – What Do We Know? Proceedings of the Cornell Conference, **Proceedings...** <https://ecommons.cornell.edu/handle/1813/36474>. 2013.

COMBS, D. K. TTNDFD: A new approach to evaluate forages Proceedings of the Cornell Nutrition Conference, **Proceedings...** <https://hdl.handle.net/1813/36476>. 2013.

CONTRERAS-GOVEA, F. E. *et al.* Microbial inoculants effects on silage and *in vitro* ruminal fermentation, and microbial biomass estimation for alfalfa, BMR corn, and corn silages. **Animal Feed Science and Technology**, v. 163, p. 2–10, 2011.

DASH, S. K. *et al.* Comparison between whey and lactose as alfalfa haylage additives. **Journal of Animal Science**, v. 39, p. 115–123, 1974.

DONALD A. S.; FENLON, D. R.; SEDDON, B. The relationships between ecophysiology, indigenous microflora and growth of *Listeria monocytogenes* in grass silage. **Journal of Applied Microbiology**, v. 79, p. 141-148, 1995.

ELFERINK, S. *et al.* Los procesos de fermentación en el ensilaje y su manipulación. Memorias de la conferencia electrónica de FAO sobre ensilaje en los trópicos. ED. L. t' Mannetje. **Estudio FAO producción y protección vegetal**, v. 161, p. 17-30, 2000.

ELFERINK, S. O. *et al.* Manipulating silage fermentation. **Feed Mix**, v. 10, n. 3, p. 20-23, 2002.

FARIÑA, S. R; CHILIBROSTE, P. Opportunities and challenges for the growth of milk production from pasture: The case of farm systems in Uruguay. **Agricultural Systems**, v. 176, p.102631, 2019.

FILYA, I. The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages. **Journal of Applied Microbiology**, v. 95, p. 1080-1086, 2003.

GARCIA, A. D. *et al.* Effects of temperature, moisture, and aeration on fermentation of Alfalfa silage. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 93-103, 1989.

GORDON, F. J. Effect of silage additives and wilting on animal performance. In: **Recent advances of animal nutrition**. Ed. W. Haresign, D.J.A. Cole. Butterworths, London. 1989.

GUIDI, B. **Evaluación de la conservación y calidad nutricional de ensilajes de pasturas y cereales de invierno elaborados en predios comerciales**. Tesis de Maestría en Nutrición de Rumiantes, Facultad de Veterinaria, UdelaR. Uruguay, 2020.

HASHEMZADEH-CIGARI, F. *et al.* Interactive effects of molasses by homofermentative and heterofermentative inoculants on fermentation quality, nitrogen fractionation, nutritive value and aerobic stability of wilted alfalfa (*Medicago sativa L*) silage. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 98, p. 290-299, 2014.

HENDERSON, N. Silage additives. **Animal Feed Science and Technology**, v. 45, p. 35-56, 1993.

KUNG, L. **Silage fermentation and additives**. Direct fed microbial, enzyme and forage additive compendium. Miller Publishing Co. Minnetonka, MN, USA, 2001.

LEIBENSPERGER, R.; PITT, R. A model of Clostridial dominance in ensilage. **Grass and Forage Science**, v. 42, p. 297-317, 1987.

MCDONALD, P. *et al.* **Nutrición Animal**. 6º ed. Ed. Acribia, Zaragoza, España, 2006.

MCDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. **The Biochemistry of Silage**. 2nd ed. Marlow, UK. Chalcombe Publications, 1991.

MORAN, J. P.; OWEN, T. R. The effects of Ecosyl treated silage on milk production by lactating cows. **Proceedings from the National Conference on Forage Quality, Evaluation and Utilization**. Univ. Nebraska, Lincoln, 1994.

MORRISON, I. M. Changes in the cell wall components of laboratory silages and the effect of various additives on these changes. **Journal of Agricultural Science**, v. 93, p. 581–586, 1979.

MUCK, R. E. Silage microbiology and its control through additives. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39 (SE), 2010.

MUCK, R. E. The art and science of making silage. **Proceedings Western Alfalfa and Forage Conference**. Las Vegas, NV, US. (<http://alfalfa.ucdavis.edu>) 2011.

MUCK, R. E.; FILYA, I.; CONTRERAS-GOVEA, F. E. Inoculant Effects on Alfalfa Silage: in vitro gas and volatile fatty acid production. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 5115–5125, 2007.

PANG, H. *et al.* Natural populations of lactic acid bacteria associated with silage fermentation as determined by phenotype, 16S ribosomal RNA and recA gene analysis. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 34, p. 235–241, 2011.

PEYRAT, J. *et al.* Effects of ensiling maize and sample conditioning on in situ rumen degradation of dry matter, starch and fibre. **Animal Feed Science and Technology**, v. 196, p. 12–21, 2014.

REPETTO, J. L. *et al.* Effect of wilting and ensiling on ruminal degradability of temperate grass and legume mixtures. **Animal Research**, v. 54, p. 73-80, 2005.

REPETTO, J. L. *et al.* Use of fresh cheese whey as an additive for Lucerne silages: Effects on chemical composition, conservation quality and ruminal degradation of cell walls. **Animal Feed Science and Technology**, v. 170, p. 160-164, 2011.

SALSBURY, R. L.; MATHER, R. E.; BENDER, C. B. Various carbohydrates as energy sources for some mixed cultures of silage organisms. **Journal of Dairy Science**, v. 32: p. 901–906, 1949.

SANCHEZ, W. K. *et al.* Effect of fibrolytic enzymes on lactational performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 79 (S1), p. 183. 1996.

STIRLING, S. *et al.* Stage of growth and ensiling: impact on chemical composition, conservation quality, and in situ ruminal degradability of whole-crop oat. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, apenas submetido.

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

WEINBERG, Z. G. *et al.* Ensiling whole-crop wheat and corn in large containers with *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri*. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 28, p. 7–11, 2002.

WEINBERG, Z. G.; MUCK, R. E. New trends in development and use of inoculants for silage. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 19, p. 53–68, 1996.

WILKINSON, J. M.; DAVIES, D. R. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. **Grass and Forage Science**, v. 68, p. 1–19, 2012.

YANG, J. *et al.* Natural populations of lactic acid bacteria isolated from vegetable residues and silage fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 3136–3145, 2010.

## **Autores**

Cecilia Cajarville<sup>1</sup>, José Luis Repetto<sup>2</sup>

1. Unidad Académica de Nutrición. Departamento de Producción Animal y Salud de Sistemas Productivos, Facultad de Veterinaria, UdelaR, Uruguay.
2. Unidad Académica de Bovinos. Departamento de Producción Animal y Salud de Sistemas Productivos, Facultad de Veterinaria, UdelaR, Uruguay

---

## Factors affecting the nutritive value and fermentation of high-moisture corn

Ben Saylor, Luiz Ferraretto

### 1. Introduction

High-moisture corn (HMC) is an important feedstuff to help meet the nutrient demands of a lactating cow. Even though HMC has greater ruminal and total-tract starch digestibility compared to dry corn (FERRARETTO *et al.*, 2013), some limitations to maximize its fermentation and starch availability exist. From the perspective of the corn plant, starch present in the kernel endosperm exists primarily to nourish the germ. Therefore, the corn kernel possesses key structural features that aid in its ability to protect this valuable resource. From the perspective of a ruminant nutritionist, however, these same structural features are the primary limitations to starch digestion in the animal. First, the pericarp surrounding the endosperm of corn kernels is highly resistant to microbial and enzymatic degradation (MCALLISTER *et al.*, 1994). Therefore, breaking the pericarp is essential for digestion of starch. Even when the pericarp is broken successfully, however, starch degradation is inhibited by the hydrophobic zein protein matrix surrounding starch granules (KOTARSKI *et al.*, 1992). Zein protein degradation in the rumen is very slow (PHILIPPEAU *et al.*, 2000; LOPES *et al.*, 2009). Ensiled feeds such as HMC have the complex starch-protein matrix that surrounds starch granules broken down during silage fermentation, making starch more accessible for microbial and enzymatic degradation in the rumen and small intestine, respectively. However, the low moisture content of HMC can make achieving a thorough fermentation challenging (KUNG *et al.*, 2007) as organic acid production may be reduced due to limited water availability (MUCK, 1988). High-moisture corn is also prone to aerobic deterioration because of its reduced fermentation capacity and high starch content, which can be metabolized by spoilage yeasts (KUNG *et al.*, 2007).

Fortunately, there are numerous strategies available to optimize fermentation and overall quality of HMC. Likewise, some existing strategies may improve the accessibility of microbial and host enzymes to starch in HMC and are essential for the efficient utilization of these feedstuffs by dairy cattle. The objective of this review is to discuss factors that affect the nutritive value and fermentation of HMC, as well as strategies available to producers to optimize its nutritive value and fermentation.

## 2. Storage

It is well-understood that, as plant sugars are fermented, organic acids accumulate in the silo during storage reducing pH (KUNG *et al.*, 2018). The primary fermentation phase is thought to last from 7 to 45 d (PAHLOW *et al.*, 2003). However, there is evidence to suggest that the fermentation may last much longer in HMC (KUNG *et al.*, 2018). Studies with HMC have reported a gradual increase in concentrations of organic acids and other fermentation end-products, like alcohols, for 120 d or more (HOFFMAN *et al.*, 2011; KUNG *et al.*, 2014). Furthermore, prolonged storage allows for the continual degradation of the zein proteins that surround starch granules in corn kernels (HOFFMAN *et al.*, 2011) and the accumulation of nitrogenous compounds, like ammonia-N and soluble CP, over time (BARON *et al.*, 1986; HOFFMAN *et al.*, 2011; KUNG *et al.*, 2014). The continual degradation of zein proteins with prolonged ensiling of HMC makes starch more accessible for digestion (KUNG *et al.*, 2018). In a study evaluating the effect of ensiling time on HMC, Hoffman *et al.* (2011) observed that the  $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ , and  $\beta$  prolamin-zein subunits of the starch-protein matrix were reduced from 10 to 40% when comparing HMC stored for 0 d with 240 d. Ferraretto *et al.* (2014) used month of sample submittal as a proxy for storage length when analyzing a data set comprised of more than 6,000 HMC samples obtained from a commercial laboratory. It was observed that in vitro starch digestibility of HMC increased 9%-units when month of sample submittal increased from October to August of the following year. Concentrations of soluble CP and ammonia-N followed a similar trend (FERRARETTO *et al.*, 2014). Junges *et al.* (2017) reported that bacterial proteolysis was the primary contributor to the disruption of the starch-protein matrix in corn silages (60%), followed by plant enzymes (30%), fungi (5%), and fermentation end-products (5%) underscoring the importance of

good ensiling practices not only to achieve preservation but also to enhance starch availability. Benefits of fermentation on starch digestibility, however, is not solely related to the chemical effects on zein proteins. There is some evidence suggesting prolonged storage may further improve digestibility of starch by means of kernel particle size reduction. Studies evaluating the influence of storage length on kernel particle size are scarce. Saylor *et al.* (2020) found that mean particle size decreased from d 0 to d 14 of storage when HMC was coarsely ground, but not when it was finely ground. In that study, mean particle size was unchanged for both coarsely and finely ground HMC as storage increased from 14 to 28 d. Therefore, space- and feed inventory-permitting, increasing storage length of HMC is a valuable strategy for increasing starch digestibility. Although prolonged storage can make starch of various types of silage more available, it is crucial to understand that fermentation may not overcome and sometimes not even attenuate lower starch digestibility due to other factors.

### 3. Hybrid selection

Optimizing starch digestibility of HMC starts with hybrid selection. Grain characteristics are altered primarily through modifications in nutrient concentration or starch composition (FERRARETTO; SHAVER, 2015). For example, modifications in nutrient concentration are often related to greater CP and fat, usually at the expense of starch. Modified starch composition can be observed in hybrids selected for starch high in amylopectin over amylose, or hybrids with a greater proportion of floury than vitreous endosperm (FERRARETTO; SHAVER, 2015). Increased kernel vitreousness has been shown to reduce ruminal in situ degradation of corn starch (CORREA *et al.*, 2002; LOPES *et al.*, 2009). Therefore, selection of hybrids with a more floury, less vitreous endosperm has potential to enhance digestibility of starch in HMC. In an assessment of U.S. dent corn hybrids and Brazilian flint unfermented corn hybrids, Correa *et al.* (2002) found a strong negative correlation ( $r^2 = 0.87$ ) between kernel vitreousness and ruminal in situ starch availability. Kernel vitreousness, determined by manual dissection, of the Brazilian hybrids averaged 73.1%, while that of the U.S. hybrids averaged 48.2%. In this experiment, corn grain samples were dried and ground through a 4 mm screen prior to ruminal incubation. Lopes *et al.* (2009) conducted an experiment to evaluate the effect of

corn endosperm type on nutrient digestibility in lactating dairy cows. Cannulated Holstein cows were fed diets containing dry rolled vitreous-, floury, or opaque-endosperm corn. The percentage of vitreous endosperm was 0 for the floury and opaque endosperm hybrids, and 64% for the vitreous corn. Additionally, concentrations of zein protein in the floury and opaque hybrids was 30% of that in the vitreous endosperm hybrid. Lopes *et al.* (2009) observed that in vitro and in situ starch digestibility were 42 and 32% greater on average, respectively, for floury and opaque endosperm corn than vitreous endosperm corn. It is important to note that these two trials assessed effects of corn hybrid on starch digestibility using dry corn, not HMC. Although the magnitude of corn endosperm effects on starch digestibility of HMC could be lesser due to benefits of fermentation on starch digestibility (KUNG *et al.*, 2018), the hybrid effect should still be considered. Allen and Ying (2021a, b) evaluated the effects of endosperm type (floury or vitreous) in dry ground corn and HMC. Vitreousness of floury and vitreous corn was 8.6 and 81.0% of endosperm, respectively, in dry ground corn and 0 and 40.5% in high-moisture corn (before ensiling). Ruminal in vivo starch digestibility was 18.9%- and 13.1%-units greater for floury than vitreous endosperm in dry ground corn and HMC, respectively. However, compensatory intestinal digestion was observed in HMC (similar between endosperm types) and dry ground corn (2.0%-units greater for floury endosperm), and minor effects on production.

#### 4. Maturity

Delayed maturity at harvest is known to impair the utilization of the kernel fraction of HMC. Ferraretto *et al.* (2014) observed that the 7-h ruminal in vitro starch digestibility of HMC was negatively correlated to HMC DM concentration. The reduction in starch digestibility with advanced maturity is partially associated with the increase in the proportion of vitreous endosperm at greater maturities (CORREA *et al.*, 2002; FERRARETTO *et al.*, 2018b). The increase in kernel vitreousness, which also increases kernel hardness, may also increase the resistance of kernels to mechanical processing (FERRARETTO *et al.*, 2018b). Additionally, metabolic water available for the growth of bacteria in the silo becomes limiting as corn plants mature and DM concentrations (in the plant and within the kernel) increase (MUCK, 1988). Reduced concentrations of organic

acids, suggesting a limited fermentation, are frequently observed in more mature corn silages (KUNG *et al.*, 2018).

Baron *et al.* (1986) observed an increase in pH and a reduction in concentrations of acids as DM levels in ensiled corn grain increased from 78 to 64%. Goodrich *et al.* (1975) ensiled corn grain at harvest (67% DM) or after air drying to DM concentrations of 72.5 or 78.5%. In this study, pH increased as DM concentrations decreased. Concentrations of lactic acid were greater in corn grain ensiled at 67% and 72.5% DM compared to those in corn grain ensiled at 78.5% DM. Considering that up to 60% of the proteolysis that occurs in the silo can be attributed to bacterial activity (JUNGES *et al.*, 2017), it is possible that a reduction in bacterial proteolysis may also be contributing to the reduction in starch digestibility frequently observed in more mature HMC. In an assessment of over 6,000 HMC samples, Ferraretto *et al.* (2014) observed that pH of HMC increased as DM concentrations increased from 65 to 80%. In this same study, a negative correlation between DM concentration and indicators of proteolytic activity was observed (FERRARETTO *et al.*, 2014). Increasing DM concentrations decreased concentrations of ammonia-N and soluble CP. Since proteolytic activity is the primary mechanism by which starch digestibility of HMC is increased with ensiling, DM concentration was also found to be negatively associated with 7-h ruminal in vitro starch digestibility of HMC (FERRARETTO *et al.*, 2014). Recently, our laboratory conducted a study to evaluate the effect of fermentation on starch digestibility without having different vitreousness (SAYLOR *et al.*, unpublished). Briefly, this was accomplished by increasing DM concentrations in HMC through oven-drying at a low temperature as an alternative to a delayed harvest, like the method used by Goodrich *et al.* (1975). A more robust fermentation, proteolysis, and ruminal in situ starch disappearance were achieved with progressing storage when HMC was ensiled at 65% compared to 70% DM (SAYLOR *et al.*, unpublished). These findings highlighted harvesting HMC at the appropriate maturity is essential for improving starch digestibility. It is recommended that HMC be harvested near 70% DM to optimize nutritive value and lactation performance.

Fernandes *et al.* (2021) conducted an experiment to evaluate the influence of hybrid, moisture, and length of storage on the fermentation profile and starch digestibility of corn grain silages. Two corn hybrids (flint and soft) were harvested

at either 50% DM, 70% DM, or 80% DM. The 50 and 70% DM corn grain was ground and ensiled. The 80% DM corn was rehydrated with water to reach an approximate DM concentration of 70%, ground, and then ensiled. Silos were stored for 0, 7, 21, 60, and 120 d. Fernandes *et al.* (2021) found that concentrations of zein proteins were 24% higher for the flint hybrid compared to soft hybrid in the 70% DM and rehydrated corn grain at ensiling. However, after 7 d of storage, there were no differences in zein protein concentrations between the two hybrids. Furthermore, it was observed that ruminal in situ DM and starch digestibility at 24 h was similar for all silages after 60 d of storage, independent of the hybrid type or moisture content. Extended time in storage increased ammonia-N, soluble CP, and in vitro starch digestibility in whole-plant corn silage of various hybrids, maturities, and chop lengths (FERRARETTO *et al.*, 2015a). However, extended fermentation did not attenuate the negative effects of kernel vitreousness and maturity at harvest on in vitro starch digestibility (FERRARETTO *et al.*, 2015a). A similar approach was used to evaluate the effects of prolonged storage in earlage harvested at either ½ of the kernel milk line or black layer stage in earlage (FERRARETTO *et al.*, 2016; FERRARETTO *et al.*, 2018a). Both studies reported greater ruminal in vitro starch digestibility at 7 h for early maturity earlage from 0 to 240 d of storage.

Further research studying the effects of storage length on starch digestibility of whole-plant and fractionated corn silage of different maturities or DM concentrations is warranted. Because literature is conflicting about fermentation eliminating differences in starch digestibility, targeting for proper moisture is advised.

## 5. Particle size

Intact kernels reduce starch digestibility of whole-plant and fractionated corn silage (FERRARETTO *et al.*, 2018b). Therefore, thorough kernel processing is essential for exposing starch in the endosperm to microbial degradation in the rumen and enzymatic digestion in the small intestine. Corn kernels that have been extensively processed have increased surface area available for microbial attachment and enzymatic degradation (HUNTINGTON, 1997). Ekinci and Broderick (1997) conducted an experiment to evaluate the effect of processing HMC on ruminal fermentation and milk yield. In this study, HMC was rolled prior

to ensiling. Ground HMC was processed further by grinding through a 9.5-mm screen which reduced the geometric mean particle size from 4.33 to 1.66 mm. Intake and 4% FCM yield were greatest for cows fed a diet containing ground HMC and lowest for cows fed a diet containing the rolled HMC. Additionally, grinding HMC was found to increase digestibilities of DM, organic matter, and starch. In the same study, it was observed that grinding of HMC decreased pH and increased total volatile fatty acid concentration in ruminal *in vitro* incubations. Overall, authors concluded that grinding of HMC improved its utilization by lactating cows by stimulating ruminal fermentation (EKINCI; BRODERICK, 1997). In a meta-analysis evaluating the effect of corn grain harvesting and processing methods on dairy cow performance, Ferraretto *et al.* (2013) observed that total-tract starch digestibility of HMC was 95.2% when the geometric mean particle size (GMPS) was < 2,000  $\mu\text{m}$  (average of 1,450  $\mu\text{m}$ ), and 89.5% when GMPS was > 2,000  $\mu\text{m}$  (average of 3,630  $\mu\text{m}$ ). Interestingly, lactation performance was found to not be different between cows fed HMC with a GMPS > 2,000  $\mu\text{m}$  and those consuming HMC with a GMPS < 2,000  $\mu\text{m}$  (FERRARETTO *et al.*, 2013).

Hoffman *et al.* (2012) observed a moderate negative relationship between mean particle size (MPS) of HMC and the peak absolute rate of ruminal *in vitro* gas production, supporting the hypothesis that a reduction in MPS of HMC provides more available substrate for ruminal fermentation. However, the extensive degradation of the starch-protein matrix during storage of HMC complicates this relationship, suggesting that the MPS of HMC “might not represent the true surface area available to rumen bacteria” when they degrade HMC starch (HOFFMAN *et al.*, 2012). As a result, Hoffman *et al.* (2012) developed a measurement of effective MPS (eMPS) for HMC in which MPS is adjusted for concentrations of ammonia-N in the sample (an indicator of the extent of proteolytic activity in the silo) to predict HMC fermentation potential and subsequent animal responses (HOFFMAN *et al.*, 2012). The use of eMPS, rather than MPS, was found to describe the relationship between processing and ruminal fermentability of HMC more-completely (HOFFMAN *et al.*, 2012). Tools generated based on this model suggest reduced particle size partially compensate lower starch digestibility due to short-term fermentation.

Few studies have evaluated the effect of kernel processing on fermentation of HMC. Baron (1986) observed greater concentrations of soluble

N in ground compared to whole HMC ensiled for 30 d at 67% DM. Recently, Gomes *et al.* (2020) conducted a study to evaluate the effects of processing, moisture, and storage length on the fermentation, particle size, and ruminal DM disappearance of rehydrated corn grain silage. Dry corn was ground or rolled and then rehydrated to 30, 35, or 40% moisture prior to ensiling. Silos were stored for 0, 14, 30, 60, 90, 120, or 180 d. In this study, processing, moisture, and storage length were found to influence pH and concentrations of fermentation end-products. Compared to rolling, grinding slightly increased concentrations of acetic acid which the authors attributed to greater availability of substrate for fermentation (GOMES *et al.*, 2020). Saylor *et al.* (2020) evaluated the effect of microbial inoculation and particle size on fermentation, aerobic stability, and starch digestibility of HMC ensiled for a short period. In this study, concentrations of lactic acid were found to be greater in finely ground (958  $\mu\text{m}$ ) compared to coarsely ground (4,448  $\mu\text{m}$ ) HMC after 28 d of storage. Authors attributed these differences to greater exposure of kernel sugars to microbial fermentation with finely compared to coarsely ground HMC. In a study by Saylor *et al.* (2021), pH was reduced, and concentrations of lactic, acetic, and total acids were greater in ensiled corn grain with broken kernels compared to that with intact kernels. Results from these two studies (SAYLOR *et al.*, 2020, 2021) also suggested that proteolytic activity (indicated by greater concentrations of soluble CP and ammonia N) was increased when ensiled corn grain was more extensively processed.

Overall, research studies suggest finely grinding HMC improves fermentation and starch availability. Assessment of machinery, labor, time, and energy costs is advised when determining the best particle size for each operation.

## 6. Enzymes

In recent years, interest in additives capable of enhancing starch digestibility of HMC has grown. Most of the research in this area has studied the ability of proteases to increase starch digestibility by hydrolyzing the protein matrix that surrounds starch granules (KUNG *et al.*, 2014; FERRARETTO *et al.*, 2015b). Ferraretto *et al.* (2015b) observed a 6.5%- to 7.5%-unit increase in starch digestibility when HMC was treated with an exogenous protease. In a study by

Kung *et al.* (2014), starch digestibility increased with ensiling in both control- and protease-treated HMC, but the effect was greater in HMC treated with the protease. Although it is still uncertain if the cost of proteases can be offset by the economic value gained by improving starch digestibility, the data suggest that protease application in HMC is effective and may offer producers with a greater degree of flexibility regarding storage length. In addition to exogenous proteases, certain microbial inoculants may have potential to improve starch digestibility of HMC.

## 7. Microbial inoculation

When the epiphytic microbial population present on the plant at harvest is insufficient, silage may be treated with exogenous microorganisms, in the form of bacterial inoculants, to improve the rate, extent, and quality of fermentation that occurs during the storage period. Numerous benefits of microbial inoculation exist, making it one of the most effective strategies to optimize the nutritive value of HMC.

Silages treated with homofermentative bacteria have a lower pH, reduced concentrations of acetic acid, butyric acid, and ammonia N, as well as greater concentrations of lactic acid and improved DM recovery compared to untreated silages (MUCK; KUNG, 1997). Silages treated with heterofermentative bacteria, specifically *L. buchneri*, are known to have increased concentrations of acetic acid and a greater pH compared to untreated silages. Losses of dry matter can also be greater with *L. buchneri* due to the loss of carbon dioxide associated with the conversion of lactic to acetic acid (OUDE ELFERINK *et al.*, 2001). A recent meta-analysis of 158 peer-reviewed manuscripts by Arriola *et al.* (2021) evaluated the effects of inoculation with *L. buchneri* on various silage quality parameters. Arriola *et al.* (2021) found that *L. buchneri* inoculation tended to increase pH in HMC. When *L. buchneri* converts moderate amounts of lactic to acetic acid, pH increases as acetic acid is a much weaker acid than lactic acid (KUNG *et al.*, 2018).

Under laboratory conditions, aerobic stability, an indicator of the extent of aerobic deterioration, is defined as the time required (h) for the temperature of silage exposed to air to increase 2°C above the ambient or silage baseline temperature (MORAN *et al.*, 1996). Effects of microbial inoculation on counts of

spoilage organisms (like yeasts and molds) and aerobic stability of HMC are of great interests to producers. Muck and Kung (1997) reported that the use of homofermentative inoculants reduced aerobic stability in a third of the studies they summarized, and that this response occurred primarily in corn silage. In the meta-analysis by Oliveira *et al.* (2017), aerobic stability of various forages and crops was not affected by inoculation with homofermentative LAB, although yeast counts were greater in inoculated silage. As the initiators of aerobic deterioration, elevated yeast counts may contribute to reduced aerobic stability in these silages (Pahlow *et al.*, 2003; Muck *et al.*, 2018).

One of the primary benefits of inoculation with heterofermentative LAB is the potential improvement in aerobic stability, associated with elevated concentrations acetic or propionic acid. Acetic and propionic acid have strong antifungal activity which make them uniquely capable to inhibit the growth of yeasts and molds, preventing aerobic deterioration and maintaining aerobic stability. Arriola *et al.* (2021) reported that inoculation with *L. buchneri* reduced yeast and mold counts and improved aerobic stability in HMC. Across multiple crop types, these responses were found to be dose-dependent, however. Inoculation with  $10^5$ ,  $10^6$ , and  $\geq 10^7$  cfu of *L. buchneri* per g of fresh forage reduced counts of yeasts and molds. No effects of inoculation on yeasts and molds were observed when a rate of  $\leq 10^4$  cfu/g was applied (Arriola *et al.*, 2021). All inoculation rates were found to increase aerobic stability, but the magnitude of improvement was lower when *L. buchneri* was applied at  $\leq 10^4$  cfu/g. It should be noted that the risk of aerobic deterioration and potential benefits associated with heterofermentative microbial inoculation increase substantially during summer months, as elevated temperatures can increase the growth of spoilage organisms in silage (BERNARDES *et al.*, 2018). Additionally, in warm weather, plastic films used to cover silos can become more permeable to air (BERNARDES *et al.*, 2018).

Effects of microbial inoculation on dairy cow performance have been inconsistent. In a meta-analysis of 31 lactating dairy cattle studies, Oliveira *et al.* (2017) found that inoculation with homofermentative LAB increased milk production and tended to increase DMI. Inoculation also tended to increase concentrations of milk fat and milk protein (Oliveira *et al.*, 2017). However, total-tract DM digestibility was unaffected by inoculation (Oliveira *et al.*, 2017). An

explanation for the improvement in animal performance associated with homofermentative microbial inoculation has been difficult to ascertain. In some studies, changes in silage characteristics cannot explain the observed production responses. In other studies, inoculation improved cow productivity without affecting silage fermentation (Muck *et al.*, 2018). There is some evidence to suggest that improved performance associated with microbial inoculation may be a result of the inhibition of detrimental microorganisms in silage (ELLIS *et al.*, 2016), an interaction between LAB and rumen microbes (MUCK *et al.*, 2018), or altered rumen fermentation (WEINBERG *et al.*, 2003). Contreras-Govea *et al.* (2011) found that corn silages treated with *L. plantarum* or *Lactococcus lactis* yielded more rumen microbial biomass than untreated silages. In the meta-analysis by Arriola *et al.* (2021), 12 studies evaluated the effect of inoculation with *L. buchneri* on dairy cow performance. It was observed that feeding silage inoculated with *L. buchneri* did not improve DMI, total-tract DM digestibility, or milk yield.

## 9. Concluding Remarks

Production of HMC is very important to the dairy industry. Understanding the factors that affect the nutritive value and fermentation of HMC is essential for optimizing its inclusion in dairy diets. Numerous management factors influence the nutritive value of HMC, including hybrid type, maturity at harvest and fineness of grind. Furthermore, the foundational principles of silage microbiology and biochemistry have paved the way for numerous strategies that have potential to enhance the fermentation, nutritive value, and digestibility of the HMC fed to dairy cattle.

## 10. References

ARRIOLA, K. G. *et al.* Meta-analysis of effects of inoculation with *Lactobacillus buchneri*, with or without other bacteria, on silage fermentation, aerobic stability, and performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, p. 7653-7670, 2021.

ALLEN, M. S.; YING, Y. Effects of corn grain endosperm type and conservation method on feed intake and productive performance of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, p. 7604–7616, 2021a.

ALLEN, M. S.; YING, Y. Effects of corn grain endosperm type and conservation method on site of digestion, ruminal digestion kinetics, and ruminal nitrogen metabolism in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, 7617–7629, 2021b.

BARON, V. S. *et al.* Proteolysis and fermentation of corn-grain ensiled at several moisture levels and under several simulated storage methods. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 66, p. 451–461, 1986.

BERNARDES, T. F. *et al.* Silage review: Unique challenges of silages made in hot and cold regions. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 4001-4019, 2018.

CONTRERAS-GOVEA, F. E. *et al.* Microbial inoculant effects on silage and in vitro ruminal fermentation, and microbial biomass estimation for alfalfa, BMR corn, and corn silages. **Animal Feed Science and Technology**, v.163, p. 2–10, 2011.

CORREA, C. E. S. *et al.* Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 3008-3012, 2002.

EKINCI, C.; BRODERICK, G. A. Effect of processing high moisture ear corn on ruminal fermentation and milk yield. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 3298-3307, 1997.

ELLIS, J. L. *et al.* Effects of lactic acid bacteria silage inoculation on methane emission and productivity of Holstein Friesian dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 7159–7174, 2016.

FERNANDES, J. *et al.* Influence of hybrid, moisture, and length of storage on the fermentation profile and starch digestibility of corn grain silages. **Animal Feed Science and Technology**, v. 271, 114707, 2021.

FERRARETTO, L. F.; CRUMP, P. M.; SHAVER, R. D. Effect of cereal grain type and corn grain harvesting and processing methods on intake, digestion, and milk production by dairy cows through a meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 533-550, 2013.

FERRARETTO, L. F.; CRUMP, P. M.; SHAVER, R. D. Effect of ensiling time and exogenous protease addition to whole-plant corn silage of various hybrids, maturities and chop lengths on nitrogen fractions and ruminal in vitro starch digestibility. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 8869–8881, 2015a.

FERRARETTO, L. F.; FREDIN, S. M.; SHAVER, R. D. Influence of ensiling, exogenous protease addition, and bacterial inoculation on fermentation profile, nitrogen fractions, and ruminal in vitro starch digestibility in rehydrated and high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 7318-7327, 2015b.

FERRARETTO, L. F.; SHAVER, R. D. Effects of whole-plant corn silage hybrid type on intake, digestion, ruminal fermentation, and lactation performance by dairy cows through a meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 2662-2675, 2015.

FERRARETTO, L. F. *et al.* Influence of plant population, maturity and ensiling time on fermentation profile, nitrogen fractions and starch digestibility in earlage. **Journal of Dairy Science**, v. 99(S1), p. 293-294, 2016.

FERRARETTO, L. F. *et al.* Influence of plant population and maturity, microbial inoculation and ensiling time on fermentation profile, nitrogen fractions and starch digestibility in earlage. In: XVIII International Silage Conference, **Anais...** Bonn, Germany. p. 522-523, 2018a.

FERRARETTO, L. F.; SHAVER, R. D.; LUCK, B. D. Silage review: Recent advances and future technologies for whole-plant and fractionated corn silage harvesting. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 3937–3951, 2018b.

FERRARETTO, L. F. *et al.* Relationships between dry matter content, ensiling, ammonia-nitrogen, and ruminal in vitro starch digestibility in high-moisture corn samples. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 3221–3227, 2014.

GOMES, A. L. M. *et al.* Short communication: Effects of processing, moisture, and storage length on the fermentation profile, particle size, and ruminal disappearance of reconstituted corn grain. **Journal of Animal Science**, v. 98, p. 1-9, 2020.

GOODRICH, R. D.; BYERS, F. M.; MEISKE, J. C. Influence of moisture content, processing and reconstitution on the fermentation of corn grain. **Journal of Animal Science**, v. 41, p. 876–881, 1975.

HOFFMAN, P. C. *et al.* A query for effective mean particle size in dry and high-moisture corns. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 3467–3477, 2012.

HOFFMAN, P. C. *et al.* Influence of ensiling time and inoculation on alteration of the starch-protein matrix in high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 2465–2474, 2011.

HUNTINGTON, G. B. Starch utilization by ruminants: From basics to the bunk. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 852–867, 1997.

JUNGES, D. *et al.* Short communication: Influence of various proteolytic sources during fermentation of reconstituted corn grain silages. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 9048–9051, 2017.

KOTARSKI, S. F.; WANISKA, R. D.; THURN, K. K. Starch hydrolysis by the ruminal microflora. **Journal of Nutrition**, v. 122, p. 178–190, 1992.

KUNG JR., L. *et al.* Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 4020–4033, 2018.

KUNG JR., L. *et al.* The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation and aerobic stability of ground and whole high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 2309–2314, 2007.

KUNG JR., L.; WINDLE, M. C.; WALKER, N. The effect of an exogenous protease on the fermentation and nutritive value of high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 1707-1712, 2014.

LOPES, J. C. *et al.* Type of corn endosperm influences nutrient digestibility in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 4541-4548, 2009.

MCALLISTER, T. A. *et al.* Microbial attachment and feed digestion in the rumen. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 3004-3018, 1994.

MORAN, J. P. *et al.* A comparison of two methods for the evaluation of the aerobic stability of whole crop wheat silage. In: **Proc. XI Int. Silage Conf.** Univ. of Wales, Aberystwyth, UK. p 162–163, 1996.

MUCK, R. E. Factors affecting silage quality and their implications for management. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 2992–3002, 1988.

MUCK, R. E. *et al.* Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 3980-4000, 2018.

OLIVEIRA, A. S. *et al.* Meta-analysis of effects of inoculation with homofermentative and facultative heterofermentative lactic acid bacteria on silage fermentation, aerobic stability, and the performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 4587–4603, 2017.

OUDE ELFERINK, S. J. W. H. *et al.* Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. **Applied and Environmental Microbiology Journal**, v. 67, p. 125–132, 2001.

PAHLOW, G. *et al.* Microbiology of Ensiling. In: **Silage Science and Technology**. D. R. Buxton, R. E. Muck, and H. J. Harrison, ed. ASA, CSA, and SSSA, Madison, WI. p. 31–93, 2003.

PHILIPPEAU, C.; LANDRY, J.; MICHALET-DOREAU, B. Influence of the protein distribution of maize endosperm on ruminal starch degradability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 404-408, 2000.

SAYLOR, B. A. *et al.* Effect of microbial inoculation and particle size on fermentation profile, aerobic stability, and ruminal in situ starch degradation of high-moisture corn ensiled for a short period. **Journal of Dairy Science**, v. 103, p. 379-395, 2020.

SAYLOR, B. A.; *et al.* Effect of kernel breakage on the fermentation profile, nitrogen fractions, and in vitro starch digestibility of whole-plant corn silage and ensiled corn grain. **Journal of Dairy Science Communications**, v. 2, p. 191-195, 2021.

WEINBERG, Z. G.; MUCK, R. E. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 19, p. 53–68, 1996.

WEINBERG, Z. G.; MUCK, R. E.; WEIMER, P. J. The survival of silage inoculant lactic acid bacteria in rumen fluid. **Journal of Applied Microbiology**, v. 94, p. 1066–1071, 2003.

### **Autores**

Ben Saylor, Luiz Ferraretto

Department of Animal and Dairy Sciences, University of Wisconsin, Madison, U.S.A.

## CAPÍTULO 3

---

### Computer vision and image analysis in livestock production

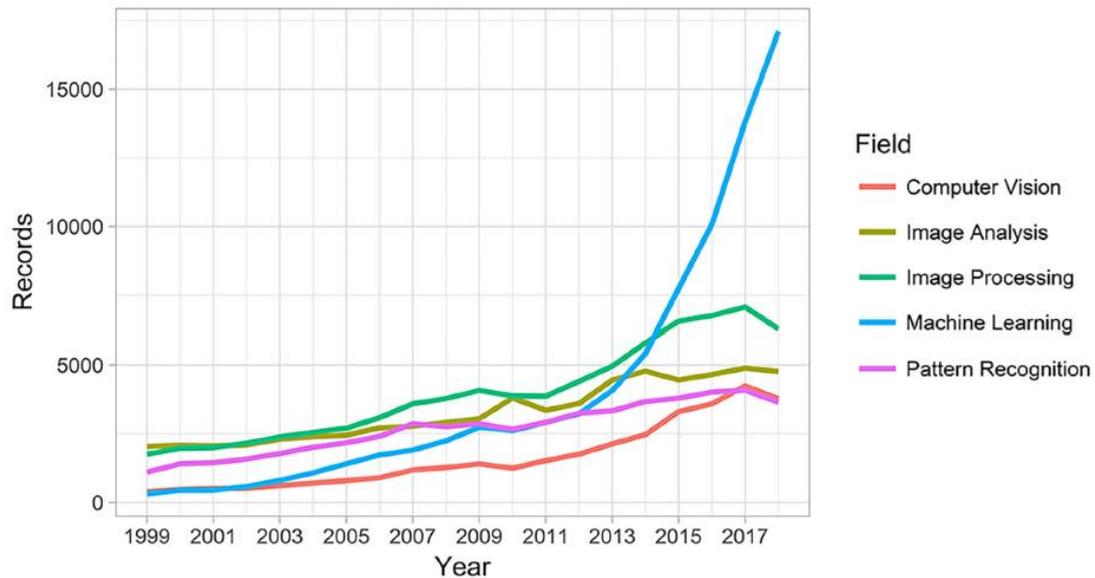
João R. R. Dorea, Guilherme J. M. Rosa, Arthur F. A. Fernandes, Tiago Bresolin

#### 1. Computer Vision System

Computer Vision can be defined as the field of study that seeks to describe the world through images by interpreting, reconstructing, and extracting properties from images, such as shapes, textures, densities, and distances (SZELISK, 2011). Computer Vision Systems are also known as machine vision systems, visual image systems, or just image systems. Therefore, Computer Vision is essentially the implementation of artificial systems to handle visual problems of interest by using image processing and analytical techniques. Along with image analysis and processing, Machine Learning and Pattern Recognition are also highly interconnected with Computer Vision. Pattern Recognition is a field that studies not only images but also other signals, such as sound and text. As the name suggests, it is an area dedicated to the study of patterns that may appear in a given signal. In the context of imaging, pattern recognition is generally studied within image analysis as the development of mathematical methods for the identification of simple geometrical structures such as lines and circles (HOUGH, 1962; ATHERTON *et al.*, 1999) or key-point features that can be jointly used to identify more complex objects or patterns (BAY *et al.* 2006; LEUTENEGGER *et al.* 2011). Machine Learning is a broader field that is concerned with the development and application of algorithms for extracting information from the most diverse data sets (MURPHY, 2012). Several machine learning algorithms have been developed or adapted specifically for solving computer vision problems.

The popularization of digital cameras in smartphones and other mobile devices is directly connected to the increasing volume of data (photos and videos) generated over the last few years in many fields. Such large and heterogeneous image data have also driven the development of cutting-edge computer vision

systems to solve the most diverse problems through sophisticated analytical techniques. This increased interest in computer vision and related areas can be illustrated by the increasing number of publications in the last decade, reported by Fernandes *et al.* 2020 (Figure 1).



**Figure 1.** Count of publications hits in “Web of Science” for computer vision, image analyses, image processing, machine learning, and pattern recognition. Adapted from Fernandes *et al.*, 2020.

Computer vision and image analysis have been undergoing a great revolution in the last few years mainly due to the advent of specific machine learning applications as deep learning. These methods show better performance than classic techniques for many challenging computer vision problems such as natural image segmentation, optical character recognition, and object classification (LECUN *et al.* 2015). Nowadays, computer vision systems using deep learning algorithms show comparable or better accuracy than humans in several visual recognition tasks, including recognizing traffic signs (CIRESAN *et al.*, 2012), faces (TAIGMAN *et al.*, 2014), and handwritten characters (CIRESAN *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2013).

## 2. Computer Vision System for High-Throughput Phenotyping in Livestock

Among the various digital technologies in livestock, computer vision systems are emerging as a powerful solution for high-throughput phenotyping, which is crucial to create optimized farm management decisions and for genetic improvement. The amount of information carried in a single image usually goes beyond the developer's primary interest when a computer vision system is created. For example, suppose that the images presented in Figure 2 were analyzed using a computer vision system built to identify individual animals and to predict their behavior. The predicted phenotypes would be four individual IDs with their respective behavior activity: in this case, standing. However, there is additional information available in the image that is not being used, such as the housing system, the presence of trees, the green leaves in the trees (indicating season), the sky condition (rainy, cloudy, or sunny), the animal stock density (area of pen/animal), animal social network, etc. Even if the computer vision system primary goal was related to animal identification and behavior, the amount of information carried by the image can allow future developments, as new ideas are created and more sophisticated data analytics tools become available. Very few sensing technologies can generate such rich data source from a single device.



**Figure 2.** Group of four dairy calves housed in a super-hutch. Figure 1a (left side): winter period, trees without leaves, and clear sky. Figure 1b (right side): summer period, trees with green leaves, and cloudy sky. Adapted from Oliveira *et al.* (2021).

Image analysis has been applied in different fields of dairy science and production such as lameness classification (ZHAO *et al.*, 2015), body condition score (HALACHMI *et al.*, 2013), and behavior monitoring (TSAI; HUANG, 2014; GUZHVA *et al.*, 2018). However, most of the studies published in the literature used manual feature extraction, such as animal biometric measurements (e.g., distance from the head to the tail, hip height, spine curvature, etc.), and then fit those features using linear models (GOMES *et al.*, 2016) or other types of predictive models (PORTO *et al.*, 2015; SALAU *et al.*, 2017). In addition, there are studies showing the applicability of thermal cameras for evaluation of lameness and mastitis (HOVINEN *et al.*, 2008; TEDÍN *et al.* 2012; BYRNE *et al.*, 2017).

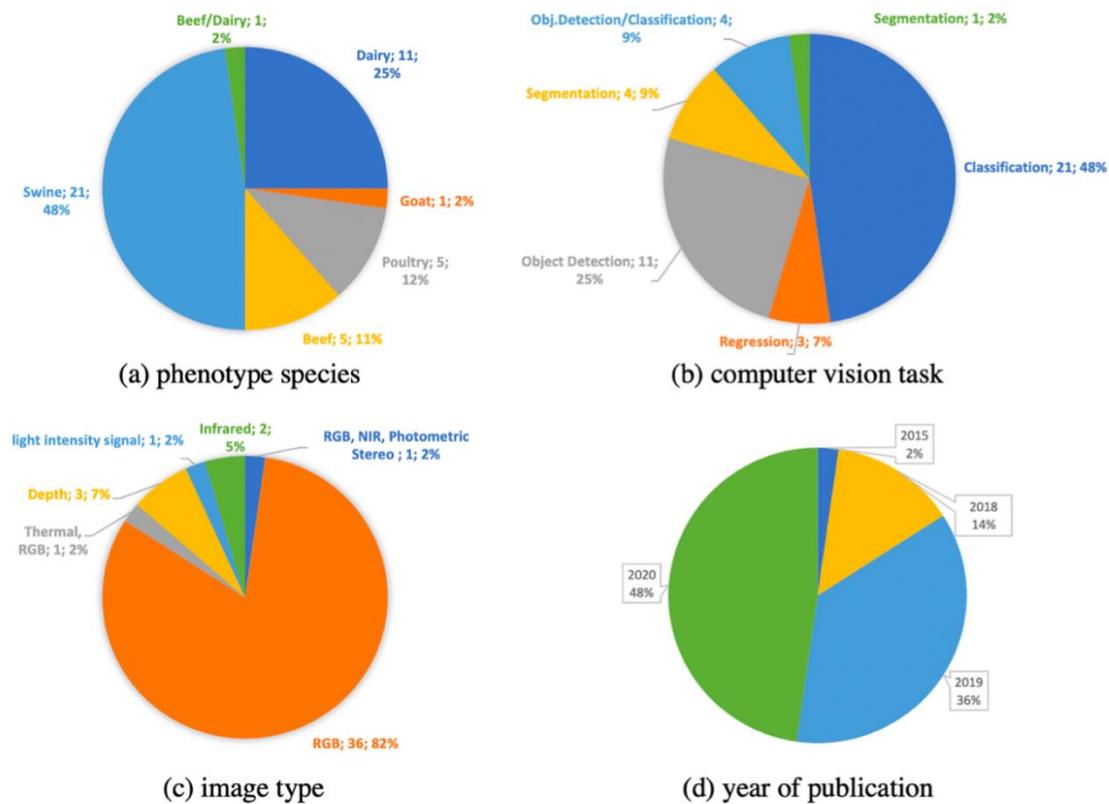
Recently, RGB-D sensors have gained attention due to the incorporation of the depth information to the digital color image. The image data from these sensors have been shown to be more robust for animal identification or for body parts recognition (FERNANDES *et al.*, 2020). The main applications have been on identification of animal locomotion and back posture (VIAZZI *et al.*, 2014; HERTEM *et al.*, 2017), body condition score (BERCOVICH *et al.*, 2013; SPOLIANSKY *et al.*, 2016), leg angle and udder depth (SALAU *et al.*, 2017), and BW (SONG *et al.*, 2018) of dairy cows. In Song *et al.* (2018), three morphological characteristics (hip height, hip width, and rump length) were measured using image analysis on an automated way. Those variables were included as additional predictors in a linear regression model along with days in milk (DIM), age, and parity (called full model). The authors reported a mean absolute percentage error of 5.5% for the full model. In addition, the authors also presented a linear regression that included DIM and age only, and the mean absolute error was 6.1%. The small improvement of adding image-based morphological characteristics to predict BW might be related to the small number of features extracted from the 3D images (only three features), and to the type of predictive model used. Therefore, type and amount of feature extracted from 3D images (FERNANDES *et al.*, 2019) and modeling approach (DÓREA *et al.*, 2018; FERNANDES *et al.*, 2020) are important factors that may improve prediction quality in image analyses. Fernandes *et al.* (2020) and Cominotte *et al.* (2020) evaluated the impact of different combinations of image features on the predictive model quality in pigs and cattle. The authors used features related to biometric

body measurements (dorsal area and length, projected body volume, height, and width in 11 points across the dorsal area) and body shape discriminator (Fourier descriptors and eccentricity) and found that models including both shape descriptors and body measures presented the best performance.

To highlight the recent growth and importance of Computer Vision in livestock, four recent review articles (NASIRAHMADI *et al.*, 2017; WURTZ *et al.*, 2019; FERNANDES *et al.*, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2021) explored the potential of computer vision systems for high-throughput phenotyping. Wurtz *et al.* (2019) and Nasirahmadi *et al.* (2017) discussed the advances on automated and high throughput image detection of farm animal behavioral traits, focusing on animal welfare and production. The article published by Fernandes *et al.* (2020a) provided an overview of key concepts related to computer vision, image processing, image analyses, and the types of devices and image ranging systems. Fernandes *et al.* (2020) also provided important key metrics for prediction quality assessment, and a compilation of animal phenotypes used for management purpose (e.g., body condition score, body weight, animal behavior, etc.), predicted using image analyses. An overview on how deep learning has been implemented and how it can be an effective tool to predict animal phenotypes, accelerating the development of predictive modeling for precise management decisions in livestock, was presented by Oliveira *et al.* (2021).

### **3. Deep Learning for Computer Vision Systems in Livestock**

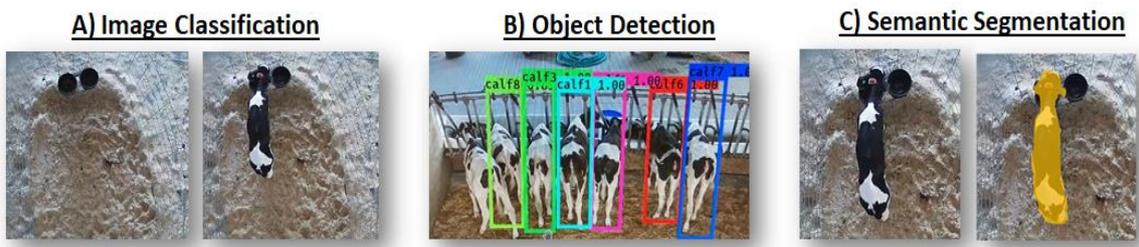
Several papers using deep learning algorithms as the main framework of image analyses in computer vision systems have been published in the last few years. Oliveira *et al.* (2021) performed a systematic review of peer-reviewed articles in which deep learning algorithms were primarily used for image analyses of livestock animals. From the total reviewed articles, 48% implemented deep learning algorithms designed to perform image classification (Figure 3b). In comparison, 25% used algorithms for object detection and only 9% for object segmentation. Some articles combined algorithms to perform image analyses, such as object detection and classification (9%) and object detection and segmentation (2%).



**Figure 3.** Descriptive information of the reviewed papers about computer vision applied to livestock species. Adapted from Oliveira *et al.* (2021).

The image analyses tasks previously mentioned (i.e., image classification, object detection, and image segmentation) are the most used in computer vision systems. Image classification is one of the most popular tasks and its main goal is to determine if a given object appears in an image. For example, image classification can be used to predict if there is a calf in the image or not (Figure 4A). Image classification can be extended to a multiclass problem, in which more than two classes could be used, and a deep learning algorithm could be applied to classify if there is a calf, a cow, or no animal in the image. Several deep learning approaches using different strategies or architectures have been proposed for image classification. One of the first deep learning architectures proposed employed convolutional and fully connected layers to handle feature extraction and classification in a single model. Such architecture brought a leap in performance that sparked a revolution in image analysis (OLIVEIRA *et al.*,

2021). Object detection is another essential research topic in computer vision covered by extensive literature (Figure 4B). Deep learning approaches consistently rank among the state-of-the-art for object detection tasks and can be roughly divided into region proposal- and regression-based methods (LI *et al.*, 2020). The first method aims to classify objects regions for one or more categories in the image while the regression-based method detects objects by treating their coordinates as a regression problem (OLIVEIRA *et al.*, 2021). Semantic segmentation is a fundamental component of many computer vision systems, and it involves partitioning images into multiple segments or objects and labeling such segments with known classes (Figure 4C). While this field has a long history of research, deep learning networks delivered models with remarkable performance for segmentation in the last few years, becoming the new standard for image segmentation.



**Figure 4.** Image tasks using deep learning algorithms. Image Classification (Image A): classify if there is a calf in the image or not; Object detection (Image B): detect individual calves in the image; Semantic Segmentation (Image C): segmenting the calf body by detecting the pixels related to the target class (calf body).

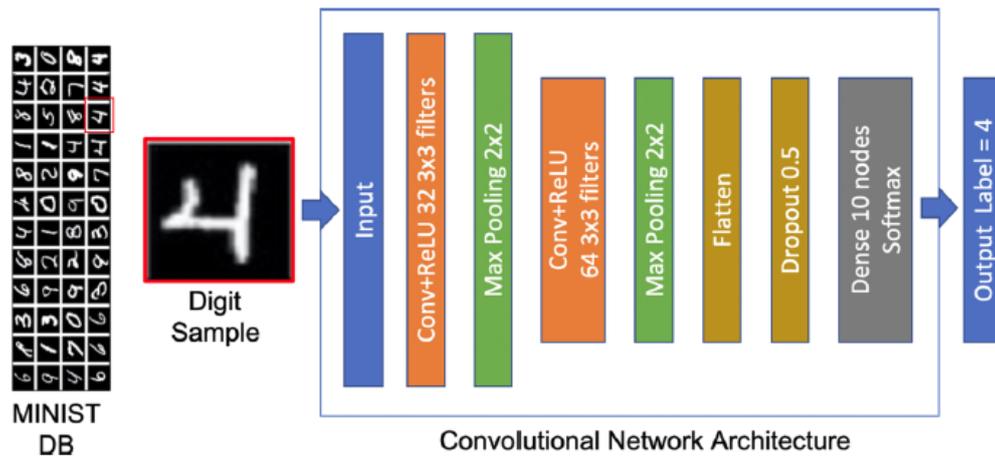
Oliveira *et al.* (2021) reported that 7% of the articles had used deep neural network architecture for image classification to accommodate a regression problem (Figure 3b). In such cases, the major change in the deep learning algorithms was the last activation layer, modified to output the predicted values as a continuous numeric value instead of a class probability. These computer vision tasks were implemented mostly using RGB images, which represented 82% (36 articles) of the total type of images used in the reviewed articles (Figure

3c). Depth and infrared images were very little studied, with 7% (3 articles) and 5% (2 articles), respectively.

The use of deep learning for image analyses in animal sciences is very recent and it is growing extremely fast. For example, in the review published by Oliveira *et al.* (2021), the oldest peer-reviewed article retrieved was published in 2015 (Zhao and He, 2015). Additionally, 84% of the total reviewed articles ( $n = 44$ ) were published in 2019 ( $n = 17$ ) and 2020 ( $n = 20$ ), while 16% were published in 2015 ( $n = 1$ ) and 2018 ( $n = 6$ ) (Figure 3d). These results confirm the rapid and recent interest in deep learning as the primary algorithm for analyzing images in computer vision systems. Most of the articles have been published in the journal *Computers and Electronics in Agriculture* ( $n = 13$ ), followed by *Biosystems Engineering* ( $n = 6$ ), *IEEE Access* ( $n = 4$ ), and *Sensors* ( $n = 4$ ). Swine ( $n = 21$ ) was the most frequent species found in the reviewed articles, followed by dairy ( $n = 11$ ) and beef ( $n = 5$ ) cattle, poultry ( $n = 4$ ), and goat ( $n = 1$ ) (Figure 3a). The most frequently investigated scenario was animal behavior monitoring ( $n = 12$ ), followed by animal detection/counting ( $n = 8$ ), animal recognition ( $n = 8$ ), health status and lameness detection ( $n = 4$ ), animal pose estimation ( $n = 4$ ), body weight and body condition assessment ( $n = 3$ ), and others ( $n = 5$ ) (Fig. 13(b)). Based on the Oliveira *et al.* (2021) review paper, it is clear that Deep Learning for image analyses have not been fully explored yet in Animal Sciences. Here, we will provide a briefly description on fundamental concepts of deep neural networks, or the so-called “deep learning” algorithms.

Deep learning algorithms were inspired by how the human brain works, using an enormous number of neurons linked by a massive number of connections to execute complex activities including speaking, moving, thinking, and seeing (GOODFELLOW *et al.*, 2016). Most deep learning architectures are artificial neural networks composed of multiple layers, thus being called “deep”, and a basic element called neuron (GOODFELLOW *et al.*, 2016). Neurons are commonly grouped in layers, where all neurons have the same function, but each of them learns different parameters. A sequence of layers will continuously transform the input data and map it into a desired outcome in a process called feedforward. The weights of each connection between different neurons are optimized through a learning process called backpropagation (GOODFELLOW *et al.*, 2016). During this optimization process, the error (difference between the

observed and predicted outcome) is computed and backpropagated through the network using gradients. Those gradients are used to update the weights of each connection between neurons to minimize the error observed in the outcome. Thus, the network learns the optimal parameters for the neurons and the weight that each connection requires to predict the desired outcome. The error minimization usually leads to the convergence of parameter values in the network architecture, resulting in accurate and precise predictions of new data points or images. Different layers are commonly used to build deep networks: fully connected or dense, convolutional, deconvolutional, pooling, recurrent, and others. Fully connected or dense layers are composed of neurons with a single activation function that receives a numerical value as input, applies the function, and outputs the resulting value. Convolutional layers implement convolution operations using kernels, where each node convolves its kernel on the input image and outputs the convolved image. Convolutional layers can also be used to change image scales through the network using strides that create output images smaller than the input or using the transpose of convolutions to create output images larger than the input (often called deconvolutional layers). Pooling and up sampling layers do the same by aggregating input image values into smaller images, or interpolating smaller images' values into bigger images, respectively. Those are often used together with convolutional layers to create encoders and decoders, for example, for image segmentation. Many other different types of layers have been proposed in the literature, and the reader should refer to Goodfellow *et al.* (2016) for more detailed information. The concatenation of layers allows the creation of a complex deep network for a given task. To illustrate that, we present a basic network architecture to identify digits using the public MNIST dataset, which comprises many digit images (ranging from 0 to 9) and their corresponding labels. The task to be tackled is to identify the correct label given an input image using a convolutional neural network architecture for digit image classification, as depicted in Figure 8.



**Figure 8.** Example of a simple convolutional neural network architecture for digit images classification. Adapted from Oliveira *et al.* (2021)

It comprises an input layer that receives samples of digit images, followed by two blocks of convolutional layers with rectified linear unit as the activation function and max pooling layers. The compact image feature maps are then flattened to derive a feature array, and finally used for classification through a fully connected or dense layer with *softmax* activation function, which represents the probability distribution over  $n$  different classes (GOODFELLOW *et al.*, 2016). The network also contains a dropout layer, which removes some of the connections between nodes to improve network generalization by reducing overfitting (GOODFELLOW *et al.*, 2016). The loss function used was the categorical cross-entropy and the optimizer Adam (KINGMA; BA, 2017), with default values. Training consisted of presenting a batch of 128-digit image samples and computing the error using the categorical cross-entropy loss function that was backpropagated to optimize the network weights for 15 epochs or iterations. That straightforward procedure manages to deliver 99% of overall accuracy for digit images classification in unseen test images.

#### 4. Public Databases for Image Analyses

It is important to highlight that most of the progress observed in the computer vision community was boosted by several publicly available datasets, challenges, and benchmarks, as the MNIST dataset presented above. Several

other datasets are available such as PASCAL VOC (Visual Object Classes) (EVERINGHAM *et al.*, 2010), ImageNet (DENG *et al.*, 2009) and MSCOCO (LIN *et al.*, 2014). PASCAL VOC is a popular dataset with annotated images available for different tasks: classification, segmentation, detection, action recognition, and person layout. The segmentation task comprises 21 classes of object labels with 1,464 images for training, 1,449 for validation, and a private test set for the actual challenge. The ImageNet dataset was also created as a collaboration between Stanford University and Princeton University, currently holding around fourteen million images initially labeled with synsets, or semantically meaningful set of words, from the WordNet (FELLBAUM, 1998) lexicon tree. The first challenge was to perform a simple classification task, in which each image was labeled to a single category among several hundreds. Although this challenge is still ongoing, it has further evolved into a multi-classification task where individual instances of the objects in the images were classified and located with bounding boxes. MSCOCO is a large-scale dataset for object detection, segmentation, and captioning. It includes scene imagery containing everyday objects in their natural contexts, with a total of 2.5 million labeled instances in 328,000 images. The detection challenge comprises more than 80 classes, providing more than 82,000 images for training, 40,500 for validation, and more than 80,000 images for testing. Although many of these public image datasets contain images of different species of animals, including pig, cattle and poultry, there are still few datasets designed specifically for use in livestock computer vision systems as presented in Table 1.

One can observe that most of these datasets have been published by the University of Bristol and refer to cattle detection and classification. The Holstein Cattle Recognition dataset (BHOLE *et al.*, 2021) consists of thermal and RGB images from 136 animals. The Newcastle dataset (ALAMEER, 2020) is based on frames of pigs manually annotated into one of five categories for postures and drinking. The FriesianCattle2015 (ANDREW *et al.*, 2016) and FriesianCattle2017 (ANDREW *et al.*, 2017) datasets have depth-segmented RGB images of Friesian Cattle. The Cows2021 dataset (GAO *et al.*, 2021) consists of top-view images from 186 Holstein-Friesian cattle with manual bounding boxes annotation and animal identities. The AerialCattle2017 (ANDREW *et al.*, 2019) dataset comprises images of tracked Friesian cattle ROIs filmed by Unmanned Aerial

Vehicle (UAV). The Zenodo dataset (PEREIRA *et al.*, 2020) holds video data over a two-month period of cows in front of automatic milking stations with manually annotated behavioral classes. The OpenCows2020 dataset (ANDREW *et al.*, 2020) consists of top-down images of Holstein cattle taken both indoors and outdoors, and it was designed for detection, localization, and identification tasks.

**Table 1.** Image datasets of livestock animals categorized by author, animal species, image analysis tasks, and image type.

Database	Authors	Species	Task	Image Type
<a href="#">Holstein Cattle Recognition</a>	Bhole <i>et al.</i> , 2021	Cattle	Classification	Thermal and RGB
<a href="#">FresianCattle2015</a>	Andrew <i>et al.</i> , 2016	Cattle	Classification	Top-View RGB
<a href="#">FresianCattle2017</a>	Andrew <i>et al.</i> , 2017	Cattle	Classification	Top-View RGB
<a href="#">AerialCattle2017</a>	Andrew <i>et al.</i> , 2019	Cattle	Detection	Aerial RGB from UAV Video
<a href="#">Zenodo</a>	Pereira <i>et al.</i> , 2020	Cattle	Detection	Sequences - RGB images
<a href="#">Cows2021</a>	Gao <i>et al.</i> , 2021	Cattle	Detection Classification	Top-View RGB
<a href="#">OpenCows2020</a>	Andrew <i>et al.</i> , 2020	Cattle	Detection Classification	Top-View RGB
<a href="#">Newcastle</a>	Alameer, 2020	Pig	Detection	Top-View RGB

Public datasets in livestock are still limited and, therefore, a recent USDA grant was awarded to four universities: Michigan State University, University of Wisconsin-Madison, and University of Nebraska-Lincoln in the USA, and University of Leuven in Belgium, with the main objective to build the largest public database on livestock images. This research group will create and make publicly available a large dataset with images and videos, and articulate deficiencies in the current computer vision algorithms for livestock.

## 5. Final Considerations

Studies developing modeling strategies to analyze longitudinal imaging data in animal science are scarce. Moreover, the literature lacks studies developing integrated and long-term computer vision systems. The need for a long-term computer vision framework that can add new animal phenotypic measurements at a minimal cost, by leveraging the computational resources previously developed (image acquisition and storage, pre-processing, and automation for analyzes and data transfer) is critical to advance precision livestock farming.

Initiatives led by private and public institutions to create a large animal science community working on artificial intelligence is crucial to advance cost-effective and reliable applications of digital technologies in commercial farms. Animal scientists interested in artificial intelligence should seek for formal training at educational institutions but should also leverage on existing public and open-source algorithms, databases, and educational material to further develop their analytical skills on AI technologies.

## 6. References

- ALAMEER, A.; KYRIAZAKIS, I.; BACARDIT, J. Automated recognition of postures and drinking behaviour for the detection of compromised health in pigs. **Scientific Reports**, v. 10, p. 13665, 2020. <https://doi.org/10.25405/data.ncl.13042619.v1>. 2020.
- ANDREW, W. *et al.* **Opencows** 2020. <https://doi.org/10.5523/bris.10m32xl88x2b61zlkkgz3fml17>. 2020.
- ANDREW, W.; GREATWOOD, C.; BURGHARDT, T. Aerial animal biometrics: Individual friesian cattle recovery and visual identification via an autonomous uav with onboard deep inference, In: **IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems (IROS)**, p. 237–243, 2020. <https://doi.org/10.1109/IROS40897.2019.8968555>. 2019.
- ANDREW, W.; GREATWOOD, C.; BURGHARDT, T. Visual localisation and individual identification of holstein friesian cattle via deep learning. In: **IEEE**

**International Conference on Computer Vision Workshops (ICCVW)**, p. 2850–2859, 2017. <https://doi.org/10.1109/ICCVW.2017.336>.

ANDREW, W. *et al.* Automatic individual holstein friesian cattle identification via selective local coat pattern matching in rgb-d imagery, In: **IEEE International Conference on Image Processing (ICIP)**, p. 484–488, 2016. <https://doi.org/10.1109/ICIP.2016.7532404>.

ATHERTON, T. J.; KERBYSON, D. J. Size invariant circle detection. **Image and Vision Computing**, v. 17, p. 795–803, 1999. doi: [https://doi.org/10.1016/S0262-8856\(98\)00160-7](https://doi.org/10.1016/S0262-8856(98)00160-7)

BAY, H.; TUYTELAARS, T.; VAN GOOL L. SURF: Speeded Up Robust Features. In: **European Conference on Computer Vision**. Berlin, Heidelberg: Springer, p. 404–417, 2006. [https://doi.org/10.1007/11744023\\_32](https://doi.org/10.1007/11744023_32).

BERCOVICH, A. *et al.* Development of an automatic cow body condition scoring using body shape signature and Fourier descriptors. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 8047–8059, 2013.

BHOLE, A. *et al.* **Holstein cattle recognition** URL, 2021. <https://doi.org/10.34894/O1ZBSA>.

BYRNE, D. T. *et al.* Temporal, spatial, inter-, and intra-cow repeatability of thermal imaging. **Journal of Animal Science**, v. 95, p. 970–979, 2017.

CIRESAN, D.; MEIER, U.; SCHMIDHUBER, J. Multi-column deep neural networks for image classification. **IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition**, 2012. <https://doi.org/10.1109/cvpr.2012.6248110>.

COMINOTTE, A. *et al.* Automated computer vision system to predict body weight and average daily gain in beef cattle during growing and finishing phases. **Livestock Science**, v. 232, p. 103904, 2020.

DENG, J. *et al.* Imagenet: a large-scale hierarchical image database. **IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR)**. IEEE, p. 248–255, 2009.

DÓREA, J. R. R. *et al.* Use of 3-dimensional camera to predict body weight in pre-weaned dairy calves. **ADSA Annual Meeting**, Knoxville – TN, 2018.

EVERINGHAM, M. *et al.* The pascal visual object classes (VOC) challenge. **International Journal of Computer Vision**, v. 88, n. 2, p. 303–338, 2010. <https://doi.org/10.1007/s11263-009-02754>.

FELLBAUM, C. (ED.). **WordNet: An Electronic Lexical Database**, Language, Speech, and Communication. MIT Press, Cambridge, MA, 1998.

FERNANDES, A. F. A.; DOREA, J. R. R.; ROSA, G. J. M. Image Analysis and Computer Vision Applications in Animal Sciences: An Overview. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 21; n. 7, p. 551269, 2020a. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.551269>.

FERNANDES, A. F. A. *et al.* A novel automated system to acquire biometric and morphological measurements, and predict body weight of pigs via 3D computer vision. **Journal of Animal Science**, v. 97, p. 496-508, 2019.

GAO, J. *et al.* **Towards self-supervision for video identification of individual holstein- friesland cattle**: 2021.The cows2021 dataset. arXiv:2105.01938.

GOMES, R. A. *et al.* Technical note: Estimating body weight and body composition of beef cattle through digital image analysis. **Journal of Animal Science**, v. 94, p. 5414–5422, 2016.

GOODFELLOW, I.; BENGIO, Y.; COURVILLE, A. **Deep Learning**. Cambridge, MS: MIT Press, 2016.

GUZHVA, O. *et al.* Now you see me: convolutional neural network based tracker for dairy cows. **Frontiers in Robotics and AI**, v.19, 2018. <https://doi.org/10.3389/frobt.2018.00107>.

HALACHMI, I. *et al.* Automatic assessment of dairy cattle body condition score using thermal imaging. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 99, p. 35–40, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2013.08.012>

HERTEM, T. V. *et al.* Implementation of an automatic 3D vision monitor for dairy cow locomotion in a commercial farm. **Biosystems Engineering**, v. 173, p. 166-175, 2017.

HOUGH, P. V. C. **Method and means for recognizing complex patterns**. 1962. Available online at: <https://www.osti.gov/scitech/biblio/4746348> (accessed April 17, 2017)

HOVINEN, M. *et al.* Detection of Clinical Mastitis with the Help of a Thermal Camera. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 4592-4598, 2008.

KINGMA, D. P.; BA, J. Adam: **A Method for Stochastic Optimization**. 2017. Available in <https://arxiv.org/abs/1412.6980>. Accessed in november,1, 2021.

LECUN, Y.; BENGIO, Y.; HINTON, G. Deep learning. **Nature**, v. 521, p. 436–444, 2015.

LEUTENEGGER, S.; CHLI, M.; SIEGWART, R.Y. BRISK: Binary robust invariant scalable keypoints. In: International Conference on Computer Vision, **Proceedings...** (Barcelona: IEEE). p. 2548–2555, 2011. <https://doi.org/10.1109/ICCV.2011.6126542>.

LI, K. *et al.* Object detection in optical remote sensing images: a survey and a new benchmark. **ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing**, v. 159, p. 296-307, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.isprsjprs.2019.11.023>.

LIN, T. Y. *et al.* **Microsoft COCO: Common Objects in Context**. **arXiv**. Available online at: <https://arxiv.org/abs/1405.0312> (accessed December 5, 2018), 2014.

MURPHY, K. P. **Machine Learning: A probabilistic perspective**. Cambridge, Massachusetts: MIT Press, 2012. Available at: <http://mitpress.mit.edu> (accessed June 18, 2019).

NASIRAHMADI, A.; EDWARDS, S. A.; STURM, B. Implementation of machine vision for detecting behaviour of cattle and pigs. **Livestock Science**, v. 202, p. 25-38, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.05.014>

OLIVEIRA, D. A. B. *et al.* A review of deep learning algorithms for computer vision systems in livestock. **Livestock Science**, v. 253, p.104700, 2021.

PEREIRA, L. S. B. *et al.* **Data set of labeled scenes in a barn in front of automatic milking system**. 2020. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3981400>.

PORTO, S. M. *et al.* The automatic detection of dairy cow feeding and standing behaviours in freestall barns by a computer vision based system. **Biosystems Engineering**, v. 133, p. 46–55, 2015.

SALAU, J. *et al.* Automated calculation of udder depth and rear leg angle in Holstein-Friesian cows using a multi-Kinect cow scanning system. **Biosystems Engineering**, v. 160, p. 154–169, 2017.

SONG, X. *et al.* Automated body weight prediction of dairy cows using 3-dimensional vision. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 4448-4459, 2018.

SZELISK, R. **Computer vision: algorithms applications**. In: Gries, D.; Schneider, F. B. London: Springer-Verlag, 2011. <https://doi.org/10.1007/978-1-84882-935-0>

SPOLIANSKY, R. *et al.* Development of automatic body condition scoring using a low-cost 3-dimensional Kinect camera. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 7714–7725, 2016.

TAIGMAN, Y. *et al.* DeepFace: Closing the Gap to Human-Level Performance in Face Verification. IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition, **Proceedings...** 2014. <https://doi.org/10.1109/cvpr.2014.220>

TEDÍN, R. *et al.* **Towards automatic estimation of the body condition score of dairy cattle using hand-held images and active shape models**. Universidade da Coruña, 10 p, 2012.

TSAI, D. M.; HUANG, C. Y. A motion and image analysis method for automatic detection of estrus and mating behavior in cattle. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 104, p. 25–31, 2014.

VIAZZI, S. *et al.* Comparison of a three-dimensional and two-dimensional camera system for automated measurement of back posture in dairy cows. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 100, p. 139–147, 2014.

WANG X. *et al.* Visualizing quantitatively the freshness of intact fresh pork using acousto-optical tunable filter-based visible/near-infrared spectral imagery. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 99, p. 41-53, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2013.08.025>

WURTZ, K. *et al.* Recording behavior of indoor- housed farm animals automatically using machine vision technology: A systematic review. **Plos One**, v. 14, p. e0226669, 2019. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226669>.

ZHAO, K. *et al.* Automatic lameness detection in dairy cattle based on leg swing analysis with an image processing technique. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 148, p. 226–236, 2018.

ZHAO, K.; HE, D. Recognition of individual dairy cattle based on convolutional neural networks. **Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering**, 2015. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1002-6819.2015.05.026>.

## **Autores**

João R. R. Dorea<sup>1</sup>, Guilherme J. M. Rosa<sup>1</sup>, Arthur F. A. Fernandes<sup>2</sup>, Tiago Bresolin<sup>1</sup>

1. Department of Animal and Dairy Sciences, University of Wisconsin-Madison, U.S.A.
2. Cobb-Vantress

## **SEÇÃO 2**

---

**Sanidade do rebanho leiteiro**

---

## Doenças metabólicas – o que acontece com o leite destas vacas?

Ricardo Xavier da Rocha

A produção de leite no Brasil está, sem dúvida, entre as principais atividades do agronegócio onde o produto *in natura* e os derivados lácteos participam de forma relevante na cadeia de suprimento de alimentos e na área econômica através da geração de empregos (direto e indireto) e renda. No caso da geração de renda, não somente para os produtores, mas também para toda a cadeia produtiva do leite, como as indústrias de lácteos, empresas ligadas ao setor (nutrição, sistemas de ordenha, software, etc.). O rebanho de animais leiteiros no Brasil é grande, no entanto, ainda, em algumas situações, com baixa produção (volume de leite) gerando uma necessidade de melhora de rentabilidade nas fazendas/propriedades leiteiras. No entanto, segundo o Relatório Socioeconômico da Cadeia Produtiva do Leite (Valdir Sangaletti, extensionista rural Agropecuário da Emater/RS-Ascar, durante a 44<sup>a</sup> Expointer), nos últimos seis anos (período entre 2015 e 2021) houve uma redução significativa no número de produtores de leite no estado que estão vinculados à indústria. De acordo com este levantamento, a redução foi de 52,28%, onde o número de produtores de leite no estado em 2015 era de 84.199 e em 2021 esse número caiu para 40.182. Este mesmo levantamento mostra, porém, que a produção de leite no Rio Grande do Sul, mesmo com esta redução no número de produtores se mantém estável sinalizando para um aumento na produção vaca/ano. Este fato pode ser atribuído ao crescimento vertical das fazendas pela profissionalização da atividade através da melhoria genética dos rebanhos, estratégias de manejo e nutrição e também da preocupação com o bem estar animal.

Na alimentação humana, o leite assume um papel importante devido ao alto valor biológico de seus nutrientes (gordura, proteína, açúcar, minerais e

vitaminas) além de permitir uma grande variedade de processamentos industriais para formulação de produtos também para consumo humano, tais como o queijo, requeijão, creme de leite, etc. No entanto, algumas alterações no leite podem resultar em perdas econômicas para todo o setor (principalmente produtores e laticínio) e estes podem ser evitados e/ou minimizados através de estratégias de manejo (em especial nutricional). Estas alterações são na composição do leite e também nas análises físico/químicas que são realizadas no leite durante o processo de inspeção. De acordo com o Art. 4º da instrução normativa nº76 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) o leite cru refrigerado deve atender as seguintes características sensoriais;

**Tabela 1.** Parâmetros físico/químicos do leite cru refrigerado.

Teor de gordura	Mínimo de 3,0g/100g
Teor de proteína	Mínimo de 2,9g/100g
Teor de Lactose	Mínimo de 4,3g/100g
Sólidos não gordurosos	Mínimo de 8,4g/100g
Sólidos totais	Mínimo de 11,4/100g
Acidez titulável	0,14 à 0,18g de ácido láctico/100mL
Estabilidade do alizarol	Mínimo de 72% v/v
Densidade relativa à 15°C	1028 à 1034
Índice de crioscopia	Entre -530°H e -555°H

Fonte: adaptado de <https://www.in.gov.br>

Um ponto importante está na compreensão de que os parâmetros mínimos exigidos pelo MAPA não são sinônimos de parâmetros compatíveis com a saúde geral de um rebanho. Ou seja, se a meta da fazenda/propriedade leiteira for de produzir leite com os parâmetros mínimos do MAPA acabará por produzir menos leite (volume), perderá em eficiência reprodutiva, em algumas situações receberá menos pelo leite (quando a indústria remunera pela composição do

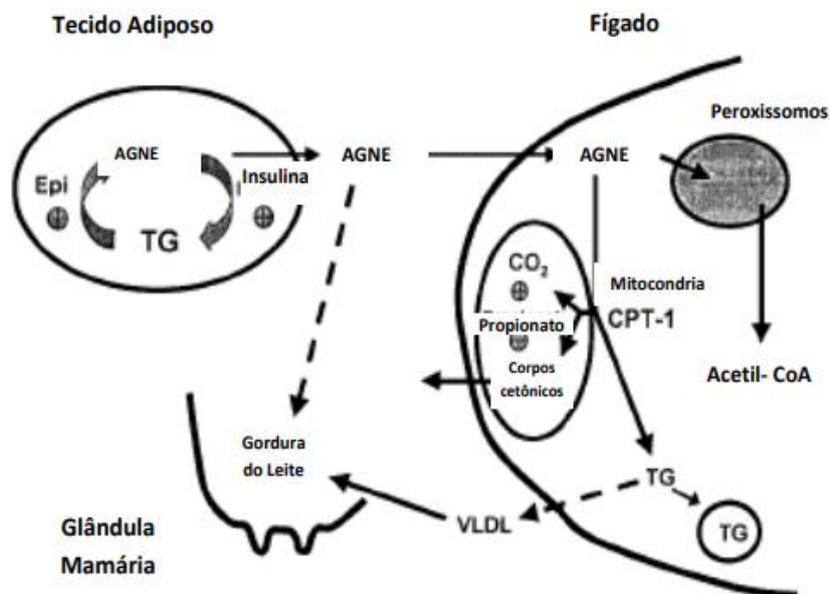
leite) e não menos importante, quando os componentes do leite não estão de acordo com um rebanho saudável existe um risco maior deste leite não passar nas provas físico/química (prova de estabilidade do alizarol, índice de crioscopia, acidez titulável, presença de cloreto, álcool positivo, etc.). Além disso, de acordo com Santos (2009), o rendimento industrial é impactado de forma direta pela composição do leite o que influencia o valor pago pelo leite ao produtor. A definição de metas em composição de leite permite ao produtor maximizar os lucros pois tem um rebanho em boas condições de produção enquanto que para a indústria as características físico/químicas a elaboração de diferentes produtos lácteos (Tronco, 1997). Nesse sentido, a observação de qual é a composição ideal do leite de acordo com o perfil racial da fazenda/propriedade permite a adoção de estratégias de manejo e nutrição. Abaixo os principais componentes do leite e suas quantidades:

**Tabela 2.** Principais componentes do leite bovinos:

Componentes	Percentual no leite
Água	86,0 - 88,0
Sólidos totais	12,0 - 14,0
Gordura	3,5 – 4,5
Proteína	3,2 – 3,5
Lactose	4,6 – 5,2
Minerais	0,7 – 0,8

Fonte: adaptado de Noro (2001).

Na avaliação da composição do leite, além dos parâmetros acima presentes na tabela também é importante avaliar a relação gordura/proteína (relação G/P) do leite e também os níveis de ureia (nitrogênio ureico no leite – NUL). O valor da divisão do percentual de gordura pelo percentual de proteína (relação gordura/proteína) no tanque deve estar entre 1,10 e 1,25. De Roos *et al.* (2007) citam que a mobilização de gordura corporal contribui para o aumento da gordura do leite.



**Figura 1.** Esquema do metabolismo de ácido graxos não esterificados em gado de leite. Fonte: Rabelo e Campos (2000) disponível em: <https://www.revistas.ufg.br>

Sendo assim, estes autores sugerem que uma relação G/P maior que 1,25 em vacas até 60 de lactação indica uma condição de balanço energético negativo moderado. Segundo Cucunubo *et al.* (2013) e Duffield *et al.* (1997), a relação G/P acima de 1,25 apresenta baixa especificidade e sensibilidade como indicador de balanço energético negativo e/ou cetose. No entanto, a partir de análises da composição de leite oriundas de diferentes indústrias de lácteos, observou-se que rebanhos que apresentam o valor da relação G/P acima de 1,25 apresentam mais risco para condenações de leite em função de alterações no índice de crioscopia, na acidez titulável de leite, presença de álcool e também

não passar na prova de estabilidade do alizarol. Estas alterações estão associadas com bastante frequência em rebanhos que estejam enfrentando quadros de balanço energético negativo. Por outro lado, valores mais baixos de relação G/P, inferiores à 1,10, podem indicar problemas de inversão gordura/proteína (G/P). Esta inversão G/P pode ser causada por erros na nutrição com a ingestão excessiva de açúcares altamente solúveis sem prévia adaptação (BARROS, 2001) e também com pouca oferta de volumoso. Barros (2001) cita que esta situação tem uma grande importância econômica por causar queda na produção e alterar a composição do leite. Além das questões nutricionais, Heck *et al.* (2009) atribuíram também a redução do teor de gordura no leite, o que acaba por afetar a relação G/P, ao período de verão. De uma forma geral o estresse térmico ocasionado pelo forte calor leva as vacas à diminuição de consumo, principalmente a ingestão de fibra. As fibras são quem estimulam a ruminação promovendo assim a produção de saliva por parte do animal (GONZÁLEZ, CAMPOS, 2003). Rebanhos que apresentam relação G/P abaixo de 1,10 têm apresentado mais riscos para anormalidades do leite, entre elas, instabilidade na prova do alizarol, índice de crioscopia e na acidez titulável de leite. Este último, principalmente pela ocorrência de acidose metabólica ocasionada pela elevação dos níveis de ácido láctico no sangue em decorrência de uma acidose ruminal ocasionada muitas vezes em decorrência de dietas ricas em grãos, amplamente utilizadas em laticínios de alto rendimento vacas (TADJIQUE; NAZIFI, 2011).

Em relação ao nitrogênio ureico no leite (NUL), Jonker *et al.* (1998) e Johnson e Young (2003), citam valores fisiológicos normais entre 10 e 14mg/dL. Sendo que o monitoramento mensal de NUL pode ser uma importante ferramenta no manejo de rebanhos leiteiros, seja ele nutricional ou reprodutivo, sendo que três aspectos devem ser observados, o primeiro é o custo dos ingredientes proteicos, pois são caros, outro aspecto é o excesso no consumo de proteína que pode comprometer a eficiência reprodutiva e também excessos de N têm um impacto ambiental negativo (JONKER *et al.*, 1998). Além dos pontos citados acima, NUL abaixo de 10mg/dL podem indicar quadros de balanço energético negativo que pode comprometer a composição do leite e também os resultados das análises físico/químicas. Da mesma forma, valores elevados de NUL (acima de 25mg/dL) estão sendo associados na indústria com

problemas na acidez titulável de leite (acima de 18°D) e também no índice crioscópico (abaixo de -555°H). A literatura mostra que tanto altas quanto baixas concentrações de NUL podem indicar problemas nutricionais nos rebanhos de leite (GODDEN *et al.*, 2001). As concentrações de NUL sobem após a alimentação, atingindo pico de três horas após seu início, voltando para as concentrações iniciais, obtidas antes da refeição, em cinco a seis horas (GUSTAFSSON; PALMQUIST, 1993).

Entre os parâmetros da composição do leite, a lactose, muitas vezes é negligenciada. A lactose aumenta a osmolaridade do leite e, conseqüentemente, a captação de água pelas células alveolares, produzindo um rendimento maior (LARSON, 1995). A lactose é um dissacarídeo, composto de dois açúcares, glicose e galactose, sendo que esta última tem origem da própria glicose. A lactose é o principal carboidrato do leite e um dos principais determinantes do volume de leite, pois ela representa cerca de 50% da pressão osmótica do leite, e assim, controla o volume de água do leite (SANTOS, 2009). Sendo ela derivada principalmente da glicose sanguínea animais que se encontram em balanço energético negativo apresentam níveis mais baixos de lactose no sangue. Outros fatores que podem baixar o percentual de lactose no leite é o tempo de lactação, onde quando mais tempo a vaca estiver em ordenha menores serão os valores de lactose e também a contaminação bacteriana. Níveis baixos de lactose no leite estão associados com bastante frequência a problemas no índice de crioscopia nas indústrias.

A partir das informações descritas neste documento, e sua compreensão, tornou-se possível montar planos de ação com o objetivo de melhorar a composição do leite e também reduzir as anormalidades de leite.

### Fatores que interferem na composição do leite

Parâmetro	Meta mínima	Causas de redução	O que precisamos verificar	Observações (fatores de risco)
% de proteína	3,2% Holandês 3,7% Jersey 3,5% rebanhos mistos	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Baixa oferta de proteína na dieta: considerar 1g de PB/kg de peso vivo e 85g de PB para litro de leite produzido;</li> <li>- Perda na sincronia ruminal: a proteína microbiana representa uma parcela muito importante da proteína utilizada para síntese proteica de leite. Nesse sentido, a disponibilidade de amido é determinante para formação de PM.</li> <li>- Balanço energético negativo: a formação de proteína depende da disponibilidade de insulina. Desta forma, qualquer condição de BEN pode gerar uma redução de proteína no leite</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Verificar a oferta de proteína para cada nível produtivo (formação de lotes de produção) e cada fase de lactação;</li> <li>- Verificar a relação entre PDR (proteína degradável ruminal) e PNDR (proteína não degradável ruminal). Esta relação deve ser, na média, de 66,6% PDR e 33,4% PNDR;</li> <li>- Verificar a relação entre PDR e amido para garantir sincronia ruminal. Esta relação deve ser aproximadamente 2,5 (2,3 – 2,7) sendo 1 (PDR) para cada 2,5 (amido);</li> <li>- Verificar condições de BEN (ex.: formação de lotes, período de transição, pesagem das vacas, ajustes nutricionais, etc...)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- LINA;</li> <li>- Crioscopia alta;</li> <li>- ESD baixo;</li> <li>- Álcool positivo;</li> <li>- Dornic alto.</li> </ul>

<p>% de lactose</p>	<p>4,5%</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Contaminação bacteriana;</li> <li>- Balanço energético negativo;</li> <li>- Tempo de lactação.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Verificar as condições de CCS e CBT do rebanho bem como as medidas de higiene de ordenha e redução de CCS (ex.: tratamentovaca seca, etc...);</li> <li>- Verificar condições de BEN (ex.: formação de lotes, período de transição, pesagem das vacas, ajustes nutricionais, etc...);</li> <li>- Verificar o DEL médio do rebanho e vacas acima de 380 dias de lactação.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- LINA;</li> <li>- Crioscopia alta;</li> <li>- ESD baixo;</li> <li>- Álcool positivo;</li> <li>- Dornic alto.</li> </ul>
---------------------	-------------	--	---	---

% de gordura	3,8% Holandês 4,5% Jersey 4,0% rebanhos mistos	A redução no % de gordura ocorre pela falha na biohidrogenação que pode ocorrer por:  - acidose ruminal; - excesso de monensina sódica; - excesso de gordura na dieta;	Acidose ruminal: - seleção de alimentos (em especial volumosos como feno e pré secado); - relação concentrado:volumoso; - tamanho de partícula da silagem; - tempo de pastejo (cuidar para não superestimar o consumo); - FDN do volumoso precisa representar em média 75% do FDN da dieta; - verificar os níveis de amido e CNF da dieta;  - monensina não pode exceder 450mg/vaca/dia;  - extrato etéreo não pode exceder 5%.	- LINA; - Crioscopia alta; - Sólidos baixo; - Dornic baixo.
Relação gordura/pr oteína	1,10 – 1,25 Análise de tanque	Relação igual ou inferior à 1,10 indica quadros de acidose ruminal no rebanho;  Relação igual ou superior à 1,25 indica quadros de cetose no rebanho		Relação igual ou inferior à 1,10 - LINA; - Crioscopia alta; - Sólidos baixo; - Dornic baixo.  Relação igual ou superior à 1,25: - LINA; - Crioscopia alta; - ESD baixo; - Álcool positivo; - Dornic alto.

Ureia	Entre 10 e 16	<p>Ureia abaixo de 10 indica BEN</p> <p>Ureia acima de 16 indica perda de sincronia ruminal (relação PDR/amido da dieta).</p>		<p>Ureia abaixo de 10:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- LINA;</li> <li>- Crisoscopia alta;</li> <li>- ESD baixo;</li> <li>- Álcool positivo;</li> <li>- Dornic alto.</li> </ul> <p>Ureia acima de 16:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dornic alto;</li> <li>- Crisoscopia baixa.</li> </ul>
-------	---------------	---	--	--

## Referências

- BARROS L. Transtornos metabólicos que afetam a qualidade de leite. In: **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2001.
- CUCUNUBO L.G.; STRIEDER-BARBOZA, C.; WITTEWER, F.; NORO, M. Diagnóstico de cetosis subclínica y balance energético negativo en vacas lecheras mediante el uso de muestras de sangre, orina y leche. **Revista Científica. FCV-LUZ**. v. 23, p. 111-119, 2013.
- DE ROOS A.P.W; VAN DEN BIJGAART, H.J.C.M.; HØRLYK, J.; DE JONG, G. Screening for subclinical ketosis in dairy cattle by Fourier transform infrared spectrometry. **Journal of Dairy Science** v. 90, p. 1761-1766, 2007.
- DUFFIELD, T.F.; KELTON, D.F.; LESLIE, K. E.; LISSEMORE, K.D.; LUMSDEN, J.H. Use of test day milk fat and milk protein to detect subclinical ketosis in dairy cattle in Ontario. **Canadian Veterinary Journal**. v. 38, p. 713-718, 1997.
- GODDEN, S.M.; LISSEMORE, K.D.; KELTON, D.F.; LESLIE, K.E.; WALTON, J.S.; LUMSDEN, J.H. Relationships between milk urea concentrations and nutritional management, production, and economic variables in Ontario dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 1128-1139, 2001.
- GONZÁLEZ, F.; CAMPOS, R. **Indicadores metabólico-nutricionais do leite**. 2003. Disponível em: <http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/13176/000386500.pdf?sequence=1>
- GUSTAFSSON, A. H.; PALMQUIST, D. L. Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea, and milk urea in dairy cows at high and low yields. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 2, p. 475-484, 1993.
- HECK, J.M.L.; SCHENNINK, A.; VAN VALENBERG, H. J. F; BOVENHUIS, H; VISKER, M. H. P. W; VAN ARENDONK, J.A.M.; VAN HOOIJDONK, A.C.M. Seasonal variation in the Dutch bovine raw milk composition. **Journal of Dairy Science**. v. 92, p. 4745-4755, 2009.
- JOHNSON, R.G.; YOUNG, A.J. The association between milk urea nitrogen and DHI production variables in Western commercial dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 3008-3015, 2003.
- JONKER, J.S.; KOHN, R.A. MUN: testing: useful but ambiguous. **Hoard's Dairyman**, v.143, n.6, p.252, 1998.

LARSON, B.L. Biosynthesis and cellular secretion of milk. In: Larson BL, editor. **Lactation**. Ames: Iowa State University Press. p.129-163, 1995.

NORO, G. **Síntese e secreção do leite**. 2001. Disponível em: [http://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/sintese\\_leite.pdf](http://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/sintese_leite.pdf)

SANTOS, M V. Treinamento online, qualidade de leite e manejo de ordenha conceitos atualizados. **Agripoint - módulo 1: composição e características do leite**, São Paulo. 2009.

Tajik J.; Nazifi S. Diagnosis of subacute ruminal acidosis: a review. **Asian Journal of Animal Science**. v. 5, n. 2, p. 80-90, 2011.

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. Santa Maria: Ed.da UFSM,1997.166p

## **Autor**

Ricardo Xavier da Rocha

Médico veterinário, doutorado pela UFSM. Consultor técnico da empresa All In Nutri

## CAPÍTULO 5

---

### Como utilizar os resultados de cultura na fazenda para reduzir custos com mastite e melhorar estratégias de controle da mastite?

Cristian Marlon de M. R. Martins, Ananda Finco Raposo Franco, Ana Carolina Meireles, Brunna de Mattos Granja, Giulia Soares Latosinski

#### 1. Introdução

Em 2050, estima-se que os casos de resistência aos antimicrobianos serão as principais causas de mortes em humanos, com total de 10 milhões óbitos de pessoas (DE KRAKER *et al.*, 2016). Do total de antibióticos atualmente produzidos, cerca de 70% são utilizados na produção animal, sendo considerado um dos principais fatores de risco para o aumento da resistência bacteriana (FDA, 2012; 2014). O Brasil é o terceiro país do mundo que mais utiliza antibióticos na produção animal. Na pecuária leiteira, o tratamento da mastite bovina é responsável por 80% do total de antibióticos utilizados, sendo a causa mais comum de ocorrência de resíduos de antibióticos no leite destinado a indústria de laticínios (VIORA *et al.*, 2014).

A mastite é uma inflamação da glândula mamária, geralmente causada por infecções bacterianas, as quais podem manifestar-se com sinais clínicos (mastite clínica - **MC**), ou sem apresentar sinais clínicos, mas com aumento das células somáticas – CCS (mastite subclínica - **MSC**). Atualmente, a quase totalidade dos casos de MC são tratados com antibióticos imediatamente após o diagnóstico da mastite. Porém, cerca de 30% a 50% dos casos de MC em rebanhos brasileiros não têm isolamento de agente causador (resultado negativo de cultura microbiológica) ou são infecções autolimitantes (TOMAZI, 2017), o que indica uma grande oportunidade de reduzir o uso desnecessário de tratamentos com antibióticos nestas situações.

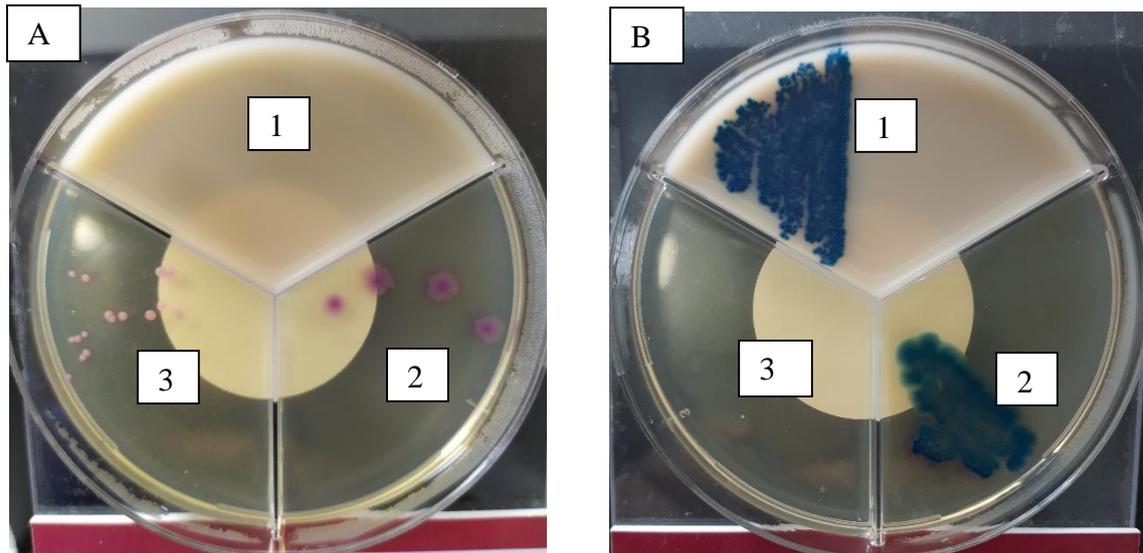
Desta forma, potencialmente, é possível reduzir pela metade o uso de antibióticos para tratamento de mastite, caso a fazenda tenha acesso a um

sistema de diagnóstico microbiológico rápido para determinar quais casos têm recomendação de tratamento com antibióticos ou não, bem como para definir os protocolos mais recomendados de tratamento, de acordo com o tipo de agente causador da mastite. Adicionalmente, o diagnóstico microbiológico rápido das causas da mastite também pode apresentar benefícios para o controle e a prevenção da mastite subclínica, por meio da identificação das principais causas de aumento da CCS das vacas, bem como realização de diagnósticos no momento da secagem da vaca e no pós-parto.

O diagnóstico microbiológico rápido na própria fazenda (cultura microbiológica na fazenda – **CMF**) das principais espécies de bactérias causadoras de mastite pode ser realizado pelo uso de meios de cultura cromogênicos (Ganda *et al.*, 2016; Granja *et al.*, 2020). Enzimas específicas de grupos de microrganismos reagem com componentes presentes nos meios de cultura cromogênicos, durante a incubação à 37 C por 22 a 24 h, o que resulta na formação de cromóforos com cores específicas de acordo com as principais espécies bacterianas. Sendo assim, a identificação do grupo e/ou espécie do microrganismo pode ser realizada pela avaliação visual da colônia após o período de incubação.

## 2. Cultura na Fazenda e Meios de Cultura Cromogênicos

A cultura microbiológica na fazenda tem como intuito o diagnóstico rápido, ou seja, em até 24 horas, sendo assim é possível utilizar os meios de cultura cromogênicos como método de diagnóstico. Um estudo realizado por Granja *et al.*, (2020) na USP, avaliou a utilização dos meios de cultura cromogênicos para diagnosticar patógenos causadores de mastite bovina. Utilizou-se no estudo uma tri placa (SmartColor 2, OnFarm, Figura 1), contendo três tipos diferentes de meios de cultura cromogênicos, como *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. e patógenos Gram-negativos, onde determinadas espécies de patógenos quando presentes na amostra de leite, crescem em uma coloração específica. Além dos meios de cultura cromogênicos, foi utilizado como metodologia padrão-ouro o diagnóstico por espectrometria de massas, o MALDI-TOF.

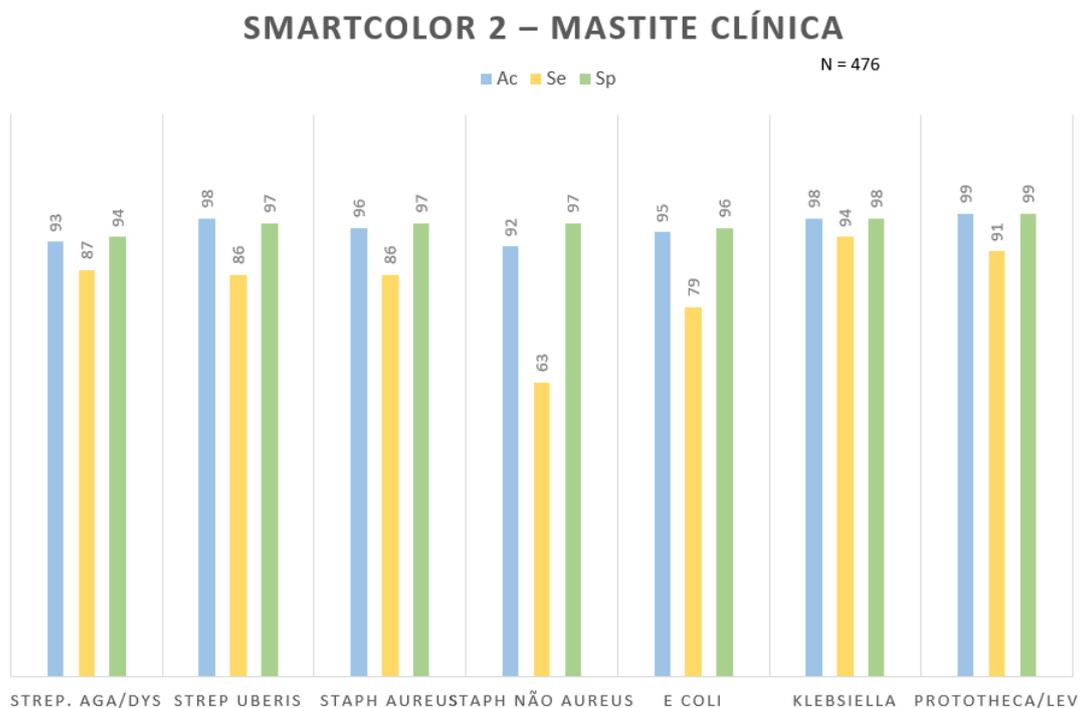


**Figura 1.** Placa SmartColor2 com três meios de cultura: 1 – Meio de cultura cromogênico e seletivo para crescimento de *Streptococcus* e outros gram-positivos; 2 – Meio de cultura cromogênico e seletivo para o crescimento de bactérias gram-negativas, prototheca e levedura; 3 – Meio de cultura cromogênico e seletivo para crescimento de *Staphylococcus*. Na imagem A, é possível observar crescimento de colônias na coloração roxa na etapa 2 e rosa na etapa 3, que são cores características para diagnóstico de *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente. Na imagem B, é possível observar crescimento de colônias na coloração azul escuro na etapa 2 e 3, que são cores características para diagnóstico de *S. uberis* e *Klebsiella* spp., respectivamente.

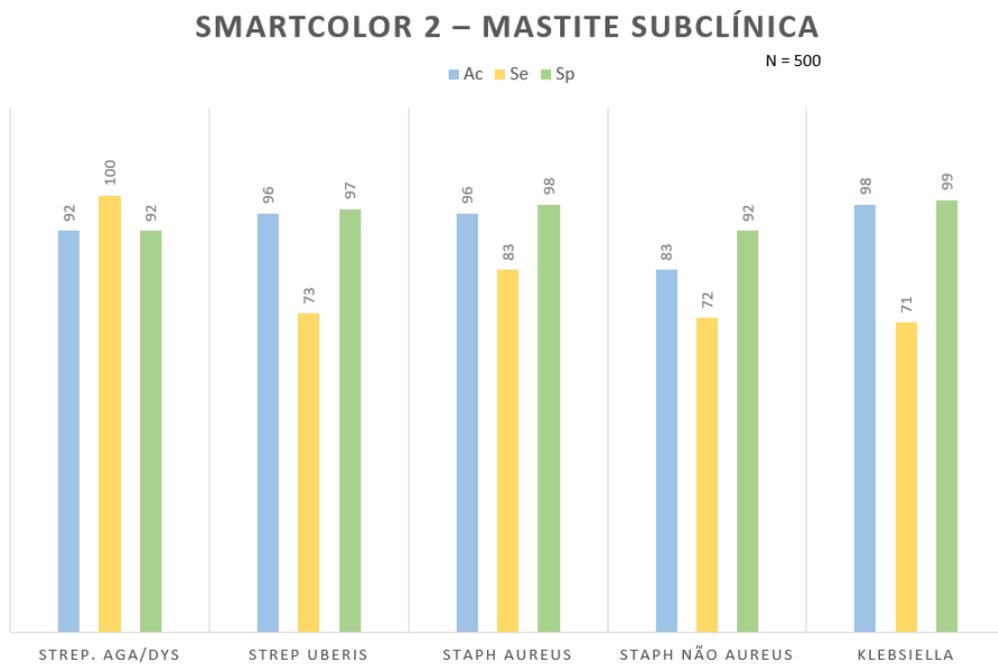
Foram analisadas 476 amostras de leite com mastite clínica e 500 amostras de leite com mastite subclínica, originadas de rebanhos dos estados de São Paulo, Minas Gerais e Paraná. Em cada tri placa foram inoculadas duas amostras de leite e incubadas em estufa a 37°C por 24 horas. Após o período de incubação as placas foram analisadas e fotografadas em um fundo preto, para que fossem identificadas as colorações das colônias bacterianas. E assim, as colônias foram analisadas por MALDI-TOF para confirmação do diagnóstico. Os indicadores de desempenho diagnóstico utilizados foram: Acurácia (ac), sensibilidade (se), especificidade (sp), valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (vpn), assim como também o valor de *Kappa*.

A partir das amostras analisadas, nas amostras de MC foram observados 40% de amostras sem crescimento microbiológico e 31% para amostras de MSC. Em relação a amostras contaminadas, ou seja, com crescimento de mais

de três tipos de patógenos, foram 2% para MC e 1% para MSC. Os indicadores variaram de acordo com os patógenos presentes. Para amostras de mastite clínica foram observadas variações de Ac = 93% (*Streptococcus agalactiae/dysgalactiae*) a 98% (*Streptococcus uberis*, *Klebsiella* spp./ *Enterobacter* spp. e *Serratia* spp.); Sp = 94% (*Streptococcus agalactiae/dysgalactiae*) a 100% (*Prototheca/Levedura*); Se = 63% (*Staphylococcus* não-aureus) a 94% (*Klebsiella* spp./ *Enterobacter* spp.) (Figura 2). Já para amostras de leite de mastite subclínica, variaram de: Ac = 83% (*Staphylococcus* não-aureus) a 98% (*Klebsiella* spp./ *Enterobacter* spp.); Sp = 92% (*Staphylococcus* não-aureus) a 99% (*Lactococcus* spp.); Se = 25% (*Lactococcus* spp.) a 100% (*Streptococcus agalactiae/dysgalactiae*) (Figura 3).



**Figura 2.** Parâmetros baseados em amostras de mastite clínica (n = 476) inoculadas na tri placa (SmartColor 2, OnFarm), por 24 h a 37°C.



**Figura 3.** Parâmetros baseados em amostras de mastite subclínica (n = 500) inoculadas na tri placa (SmartColor 2, OnFarm), por 24 h a 37°C.

A partir dos resultados encontrados na análise da SmartColor2, foi possível observar que o uso de meios cromogênicos apresentaram alta acurácia diagnóstica como método rápido de diagnóstico dos principais agentes causadores de mastite clínica e subclínica bem como ser uma ferramenta auxiliar no uso racional de antibióticos. Sendo assim, é uma ferramenta que pode auxiliar na tomada de decisão sobre o tratamento de um caso de mastite, e também auxiliar no uso racional de antibióticos nos casos sem crescimento microbiano ou de infecções autolimitantes.

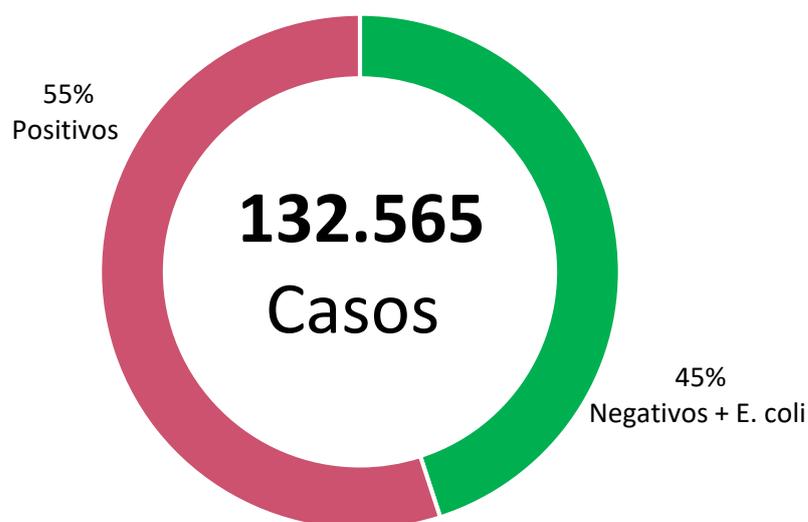
### 3. Uso de CMF para tratamento de MC e uso racional de antibióticos

#### Por que utilizar a CMF?

A CMF é uma estratégia de tratamento seletivo de MC com potencial de redução no uso de antimicrobianos de 30 à 60%, devido a identificação de casos sem crescimento de microrganismos (negativos) ou de infecções autolimitantes (CORTINHAS *et al.*, 2016; TOMAZI, 2017). A ausência de tratamentos em casos de mastite clínica leve ou moderado com resultados de cultura microbiológica

negativos ou de *E. coli* não altera os riscos de falha de tratamento, recidiva de mastite clínica, dias até a cura clínica, dias até o descarte, produção de leite e CCS (Fuenzalida e Ruegg (2019a). Ou seja, não há justificativas zootécnicas e/ou econômicas para realizar tratamentos com antimicrobianos nos casos de mastite clínica com as características acima citadas, e que proporciona uma redução significativa no uso de antimicrobianos e descarte de leite.

Durante o período de agosto de 2018 a agosto de 2021, 132.565 mil casos de MC de 1300 fazendas oriundos de todas as regiões do Brasil foram analisados pelo sistema de CMF da OnFarm. De forma geral, o potencial de redução no uso de antibióticos foi de 45%, devido aos resultados negativos e de *E. coli* (autolimitante) nos casos de mastite clínica grau leve e moderada (Figura 4). Como resultado, cerca de 7 milhões de litros de leite deixaram de ser descartados no Brasil neste período, o que gerou um potencial de economia aos usuários do sistema de CMF da OnFarm em torno de R\$ 11.497.824,00.



**Figura 4.** Potencial de redução no uso de antimicrobianos e descarte de leite nos tratamentos de mastite clínica com o uso de CMF (% cultura negativa + cultura positiva para *E. coli*). Fonte: OnFarm.

#### 4. Como utilizar o sistema de CMF?

Após a detecção dos casos de MC o leite deve ser assepticamente coletado em tubos esterilizados. Essas amostras de leite devem ser semeadas

no em placas de cultura microbiológicas, e incubadas à 37° C por 24 horas (Figura 5). Após a incubação, é realizada a leitura do crescimento microbiológico em cada meio de cultura avaliado. No caso dos meios de cultura cromogênicos, também é realizada a leitura das cores das colônias, permitindo o diagnóstico das principais espécies causadores de mastite.



**Figura 5.** Etapas de realização da CMF utilizando as soluções da OnFarm: 1 – Semeadura/Inoculação da amostra de leite na SmartColor2; 2 – Incubação da placa SmartColor2 à 37° C por 24 horas, no SmartLab; 3 – Leitura de resultados e interpretação das cores utilizando o OnFarmApp (aplicativo utilizado pela empresa para realização da gestão dos dados).

## 5. Como interpretar os resultados e tomar ações de tratamentos mais assertivas?

Para as fazendas que utilizam a CMF, a decisão de tratamento dos casos de mastite clínica leve ou moderado deve ser tomada somente após as 24 horas da detecção do caso e diagnóstico do agente causador. Estudos mostraram que não a redução de eficácia de tratamento ou qualquer efeito sobre os parâmetros produtivos e de qualidade do leite da vaca ao aguardar o resultado de cultura por 24 horas, para então definir se o caso de mastite deverá ou não ser tratado com antimicrobianos. Em dois estudos realizados por Lago *et al.* (2011a; 2011b), foram avaliados dois grupos de tratamentos: 1) Grupo controle: quartos mamários foram tratados com antimicrobiano imediatamente após a detecção dos sinais clínicos da mastite (grumos, alterações no leite, edema no quarto mamário); 2) Grupo CMF: Após a identificação dos sinais clínicos da mastite,

aguardou-se 24 horas para avaliação da necessidade ou não de tratamento com antimicrobianos, com base nos resultados de CMF. Nos casos que foram necessários tratamentos com antimicrobianos, foi observado que a espera de 24 horas para início do tratamento não alterou as taxas de cura clínica e bacteriológica, risco de casos recorrentes, risco de falha no tratamento, risco de descarte e morte, produção de leite e contagem de células somáticas (CCS), indicando que o período de espera dos resultados de CMF (24 horas após identificação da mastite clínica) não prejudica os índices de cura e de produtividade das vacas que necessitam passar por tratamentos com antimicrobianos.

Após o diagnóstico do agente causador a tomada de decisão de tratamento deve ser realizada. Na Tabela 1 é apresentado as sugestões de tratamentos de acordo com o resultado da cultura e o grau da mastite (leve, moderado e grave).

A identificação da espécie do microrganismo que está provocando os casos de MC é importante para a decisão de duração do protocolo de tratamento. Convencionalmente padroniza-se o tratamento durante 3 a 4 dias. Porém alguns microrganismos como *S. aureus*, *S. uberis* e *Klebsiella* spp. podem apresentar aumento nas taxas de cura quando realizada a terapia estendida de 5 a 8 dias de tratamento (PINZÓN-SÁNCHEZ *et al.*, 2011). Nos casos de mastite causada por *S. aureus*, também é recomendado a avaliação das características e histórico da vaca. De forma geral, a maior chance de cura de *S. aureus* ocorre em vacas de primeira cria, em fase inicial de lactação e sem histórico de mastite (cerca de 50 a 70% de chance de cura). No entanto, vacas com mais crias, em estágio final de lactação e com histórico de mastite, apresentam baixa chance de cura (<20%) e em muitos casos, a tentativa de cura do animal com tratamentos na lactação pode ser inviável, restando alternativas como secagem do animal ou descarte.

**Tabela 1.** Sugestão de tratamentos de acordo com o resultado da cultura e o grau da mastite (leve, moderado e grave).

<b>Resultado</b>	<b>Grau Leve<sup>1</sup></b>	<b>Grau moderado<sup>2</sup></b>	<b>Grau Grave<sup>3</sup></b>
<b>Negativo</b>	Não realizar o tratamento com antibióticos. Observar o animais por até 4 dias. Se o animal não melhorar nesse período realizar tratamento com antibiótico intramamário durante 2 a 3 dias	Não realizar o tratamento com antibióticos. Administrar apenas anti-inflamatório. Observar o animais por até 4 dias. Se o animal não melhorar nesse período realizar tratamento com antibiótico intramamário durante 2 a 3 dias	Tratar com antibiótico intramamário + anti-inflamatório + antibiótico injetável + hidratação (oral e/ou endovenosa)
	Tratar apenas com antibiótico intramamário	Tratar com antibiótico intramamário + anti-inflamatório injetável	Tratar com antibiótico intramamário + anti-inflamatório + antibiótico injetável + hidratação (oral e/ou endovenosa)
<b>Contaminada</b>	Tratar apenas com antibiótico intramamário	Tratar com antibiótico intramamário + anti-inflamatório injetável	Tratar com antibiótico intramamário + anti-inflamatório + antibiótico injetável + hidratação (oral e/ou endovenosa)

<sup>1</sup> Grau leve = alteração somente no leite, sem inchaço.

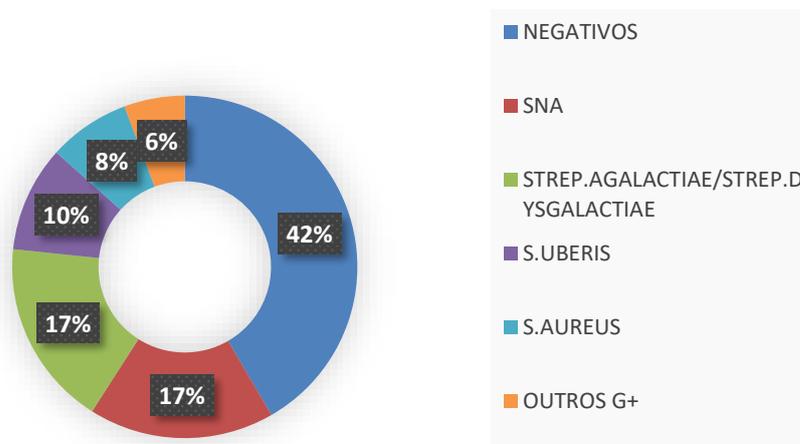
<sup>2</sup> Grau moderado = alteração no leite e inchaço/vermelhidão de úbere.

<sup>3</sup> Grau grave = alteração no leite + inchaço/vermelhidão de úbere + febre/ animal para de comer.

Para animais com casos de MC leve ou moderado causados por *Escherichia coli* (*E. coli*) foi demonstrado que não é necessário realizar o tratamento com antimicrobianos (FUENZALIDA; RUEGG, 2019b). No ensaio clínico supracitado foram comparados os resultados clínicos dos casos de MC leve ou moderado provocados por *E. coli* de dois grupos. Um grupo controle que foi administrado tratamento com antimicrobiano e outro grupo que não recebeu nenhum tratamento antimicrobiano. Os resultados desse estudo demonstraram que não há diferença na cura bacteriológica dos dois grupos de tratamento, concluindo que não é necessário realizar terapia com antimicrobianos em casos de MC leve ou moderado causados por *E. coli*.

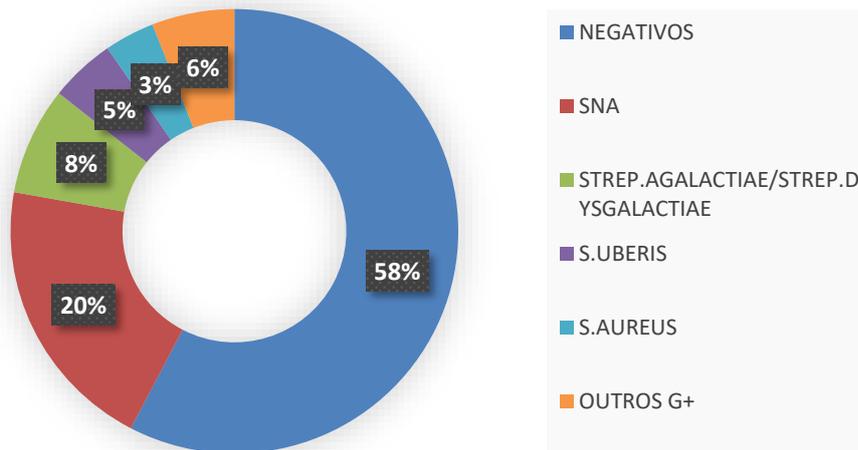
## 6. Uso de CMF para diagnóstico e estratégias de prevenção e controle de MSC

O uso do sistema de cultura na fazenda pode ir além dos casos de mastite clínica (MC), sendo muito utilizada também para casos de mastite subclínica (MSC), e no momento da secagem e pós-parto da vaca. No período de agosto de 2018 à agosto de 2021, foram realizados 95.055 diagnósticos utilizando o sistema da OnFarm e registrados no OnFarmAPP. Os resultados foram classificados da seguinte forma: 64,5% referentes a casos de mastite subclínica (N=61.368), 17,6% casos de pós-parto (N=16.799) e 8,5% casos de secagem (N=8.101). O restante (9,4%) não foi classificado. A prevalência de agentes de acordo com o tipo de amostra está demonstrada nas Figuras 6, 7 e 8.

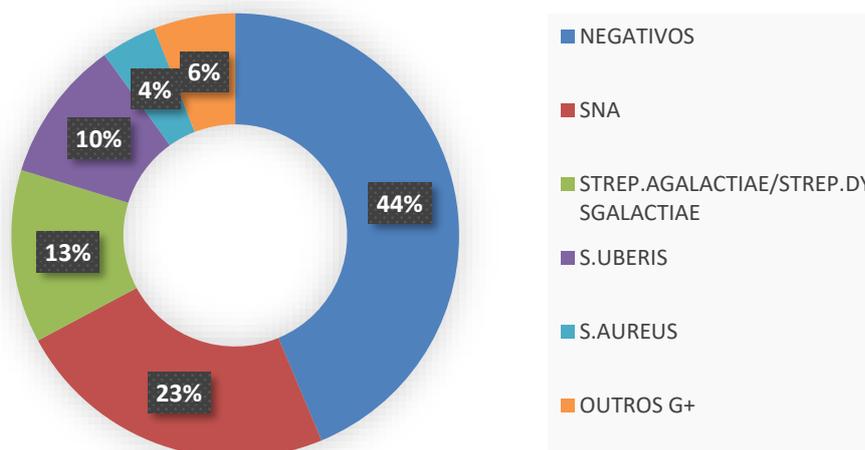


**Figura 6.** Prevalência de agentes microbiológicos em casos positivos de mastite subclínica.

Do total de casos de mastite subclínica (N=61.368), 42% tiveram resultado negativo na cultura microbiológica de vacas que apresentavam CCS elevada (mastite subclínica). Alguns fatores podem justificar este resultado, mas as principais causas podem ser associadas a cura espontânea, lesões físicas na glândula e agentes que necessitam atmosfera controlada e exames específicos (PCR) para identificação (*Mycoplasma* spp.).



**Figura 7.** Prevalência de agentes microbiológicos em casos positivos de amostras pós-parto.



**Figura 8.** Prevalência de agentes microbiológicos em casos positivos de amostras coletadas antes da secagem.

A realização de exames microbiológicos antes e após o parto devem ser realizados com os seguintes objetivos:

- 1) Avaliara eficiência dos protocolos de secagem (cura na secagem) e a incidência de novas infecções durante o período seco:
  - a. Considera-se que o quarto mamário curou, quando apresentou isolamento de um determinado agente na secagem, e o mesmo agente não foi isolado no pós-parto no mesmo quarto.
  - b. Considera-se não curado, se o mesmo agente for isolado antes e após a secagem no mesmo quarto mamário, e nesta condição assume-se que o protocolo de tratamento não foi eficaz.
    - i. Bons protocolos de tratamento devem considerar não somente o tipo de antibiótico intramamário utilizado, mas também as boas práticas de limpeza e de aplicação dos produtos. Bons protocolos de tratamento de secagem podem obter chance de cura acima de 90%.
  - c. Considera-se nova infecção, um agente que foi isolado em um quarto mamário na coleta pós-parto, mas que não havia sido isolado, no mesmo quarto mamário, na amostra coletada antes da secagem. Geralmente, incidência de novas infecções acima de 20% requerem atenção especial ao ambiente em que as vacas estão passando período seco, a qualidade da secagem e integridade dos esfínteres, e necessidade de aplicação de selante interno de tetos.

De forma geral, os agentes mais prevalentes em amostras de mastite subclínicas são *Streptococcus agalactiae*/*Streptococcus dysgalactiae* e os *Staphylococcus* “não aureus”. A grande vantagem do CMF em amostras de MSC e pós-parto, é na velocidade de identificação dos agentes, especialmente dos “contagiosos” (*S. aureus* e *S. agalactiae*), que requerem segregação imediata e eventual tratamento. Estima-se que uma vaca infectada por *S. agalactiae* tem potencial de infectar outras 3 em um intervalo de uma semana. Ou seja, a rápida identificação e segregação dos animais positivos para esta bactéria, é um dos fatores de sucesso no controle da mastite contagiosa nos rebanhos. Os animais identificados com microrganismos contagiosos em amostras pós-parto (*S. aureus* e *S. agalactiae*) devem ser segregados imediatamente e eventualmente

tratados, e deve-se considerar rastreio completo do rebanho (realização de CMF de amostras de todos os animais em lactação, ou pelo menos dos que apresentam CCS >200 mil cél/mL ou CMT positivo), para estratégias de segregação, tratamento, secagem ou descarte dos animais com problemas de mastite contagiosa (DA COSTA *et al.*, 1996).

O principal agente encontrado em amostras pós-parto são SNA, e normalmente apresentam cura espontânea dentro de 1 a 2 meses. Incidências levedas destes agentes requerem atenção especial nos processos de desinfecção de tetos antes e após a ordenha, e eventualmente planos de controle destes agentes.

## 7. Secagem seletiva

Nos rebanhos leiteiros, o período da secagem é uma etapa fisiologicamente necessária quando falamos do ciclo produtivo das vacas. A resolução das infecções intramamárias que ocorreram durante a lactação e prevenir novas infecções durante o período seco são os principais objetivos da terapia de vaca seca com utilização de antibióticos (KABERA *et al.*, 2021). Usualmente, esse período se inicia 60 dias antes do parto, no sétimo mês de gestação e tem duração de 45- 60 dias. É nesse espaço de tempo que ocorre a involução e regeneração das células da glândula mamária para se preparar para próxima lactação.

Na maioria das propriedades no Brasil, o tipo de secagem mais utilizado é a terapia completa de vaca seca, que consiste no tratamento com antimicrobianos de longo espectro nos quartos mamários sem um diagnóstico prévio se há uma infecção. Entretanto, com a constante mudança do perfil da mastite e exigências cada vez maiores da população com relação a saúde pública foram surgindo novas alternativas, e uma delas foi a terapia seletiva de vaca seca (KABERA *et al.*, 2021).

A terapia seletiva de vaca seca consiste em utilizar o antimicrobiano em vacas ou quartos mamários em que seja diagnosticado uma infecção (vaca com CCS > 200 mil cél/mL e/ou com isolamento de um agente causador de mastite quando realizado CMF antes da secagem do animal). Além do antimicrobiano, o uso apenas dos selantes tem se mostrado uma alternativa eficaz para esse tipo de terapia, quando não usamos o antimicrobiano (nas vacas ou quartos que não

tenham infecção). Esse diagnóstico pode ser realizado através da CCS individual, da cultura microbiológica ou do CMT (California Mastitis Test). É uma alternativa indicada em rebanhos que tenham CCS controlada (abaixo de 250.000 cél/mL) e um monitoramento dos casos de mastite.

Para execução da terapia seletiva de vaca seca é desejável que a CCS do rebanho (tanque) esteja abaixo de 250 mil cél/mL, e que a fazenda faça controle mensal ou bimestral da CCS individual das vacas em lactação. Nestes rebanhos, as vacas que tiverem CCS < 200.000 cél/ mL e sem mastite clínica no momento da secagem, pode ser feito o CMT do quarto mamário e a cultura microbiológica dos quartos que reagirem ao CMT. Nos quartos mamários em que o resultado for positivo (tiver um agente identificado), o ideal é realizar o tratamento com antibiótico de secagem e selante; se o resultado for negativo, pode-se utilizar apenas o selante. Caso a CCS individual seja maior que 200.000 cél/ ml e com casos de mastite clínica, realizar a terapia completa de vaca seca. (SANTOS *et al.*, 2019).

Em fazendas com CCS do tanque abaixo de 200 mil cél/mL, é esperado uma redução em torno de 75 – 80% no uso de antimicrobianos na secagem. Nesse momento a cultura na fazenda é uma ferramenta que em conjunto com os dados de CCS ou resultado do CMT, complementa as informações para que haja a tomada de decisão mais assertiva. Sendo assim, é importante destacar que cada propriedade e cada região possuem suas particularidades e por isso em cada situação deve ser avaliada a realidade de cada propriedade individualmente, entendendo o perfil do rebanho, histórico dos índices (CCS, CBT, prevalência e incidência de mastite) relacionados a qualidade de leite para assim escolher o método de terapia de vaca seca (completa ou seletiva) mais adequado para cada situação.

## 8. Referências

CORTINHAS, C.S.; TOMAZI, T.; ZONI, M.S.F.; MORO, E.; SANTOS, M.V. Randomized clinical trial comparing ceftiofur hydrochloride with a positive control protocol for intramammary treatment of nonsevere clinical mastitis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 99, n. 7, p. 5619-5628, 2016.

DA COSTA, E.O.; MELVILLE, P.A.; RIBEIRO, A.R.; WATANAB, VIANIA, E.F.C.; WHITE, C.R. Prevalence of intramammary infections in primigravid Brazilian dairy heifers. **Preventive Veterinary Medicine**. v. 29, p. 151-155, 1996.

KABERA, F.; ROY, J., KEEFE, G; DUFOUR, S. Bayesian estimation of diagnostic accuracy of somatic cell counts history and on-farm milk culture using Petrifilm® to identify quarters or cows that should be treated with antimicrobials in selective treatment protocols at dry off. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 195, 2021.

FUENZALIDA, M. J.; RUEGG, P. L. Negatively controlled, randomized clinical trial to evaluate use of intramammary ceftiofur for treatment of nonsevere culture-negative clinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 4, p. 3321-3338, 2019a.

FUENZALIDA, M. J.; RUEGG, P. L. Negatively controlled, randomized clinical trial to evaluate intramammary treatment of nonsevere, gram-negative clinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 6, p. 5438-5457, 2019b.

GRANJA, B.M.; FIDELIS, C., E.; GARCIA, B.L.M.; DOS SANTOS, M.V. Evaluation of chromogenic culture media for rapid identification of microorganisms isolated from cows with clinical and subclinical mastites. **Journal of Dairy Science**, v.104, 2020.

LAGO, A.; GODDEN, S. M.; BEY, R.; RUEGG, P. L.; LESLIE, K. The selective treatment of clinical mastitis based on on-farm culture results: I. Effects on antibiotic use, milk withholding time, and short-term clinical and bacteriological outcomes. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 9, p. 4441-4456, 2011a.

LAGO, A.; GODDEN, S. M.; BEY, R.; RUEGG, P. L.; LESLIE, K. The selective treatment of clinical mastitis based on on-farm culture results: II. Effects on lactation performance, including clinical mastitis recurrence, somatic cell count, milk production, and cow survival. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 9, p. 4457–4467, 2011b.

PINZÓN-SÁNCHEZ, C.; CABRERA, V. E.; RUEGG, P. L. Decision tree analysis of treatment strategies for mild and moderate cases of clinical mastitis occurring in early lactation. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 4, p. 1873-1892, 2011.

POUTREL, B.; RAINARD, P. California Mastitis Test Guide of Selective Dry Cow Therapy. **Journal of Dairy Science**, Nouzilly, v. 64, p. 241-248, 1981.

RINDSIG, R. B.; RODEWALD, R. G.; SMITH, A. R.; SPAHR, S. L. Complete Versus Selective Dry Cow Therapy for Mastitis Control. **Journal of Dairy Science**, Illinois, v. 61, p.1438-1497, 1978.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Controle da mastite e qualidade do leite** – Desafios e soluções. Pirassununga: Edição dos autores, 2019.

### **Autores**

Cristian Marlon de M. R. Martins\*, Ananda Finco Raposo Franco, Ana Carolina Meireles, Brunna de Mattos Granja, Giulia Soares Latosinski

OnFarm, Piracicaba, São Paulo.

\* Autor para correspondência: [cristian@onfarm.com.br](mailto:cristian@onfarm.com.br)

---

## Atualizações sobre a apara funcional e corretiva (casqueamento) dos bovinos

Glauber de Oliveira Melo, Gabriela Alves Reis, Bruna Stanigher Barbosa, Ronaldo Gomes Gargano, Fabio Celidonio Pogliani

Atualmente o Brasil apresenta grande importância no cenário mundial da pecuária, possuindo pouco mais de 218 milhões de bovinos, o país é hoje detentor do maior rebanho bovino do mundo e até então possui o título de maior exportador de carne do mundo (IBGE, 2020; USDA, 2020). Tais números sugerem a grande importância que o setor tem para a economia do país.

Com o crescimento do número de bovinos e da importância de produtos como carne e leite para a economia nacional, houve a necessidade do aumento da produtividade. A implementação de novas tecnologias ao setor agropecuário resultou em maior produção em espaços menores tornando a pecuária um setor com grande tecnificação. A intensificação do setor gerou mudança no manejo e novas preocupações surgiram, havendo assim a necessidade da implementação de métodos de monitoramento de enfermidades que até então não eram rotineiras.

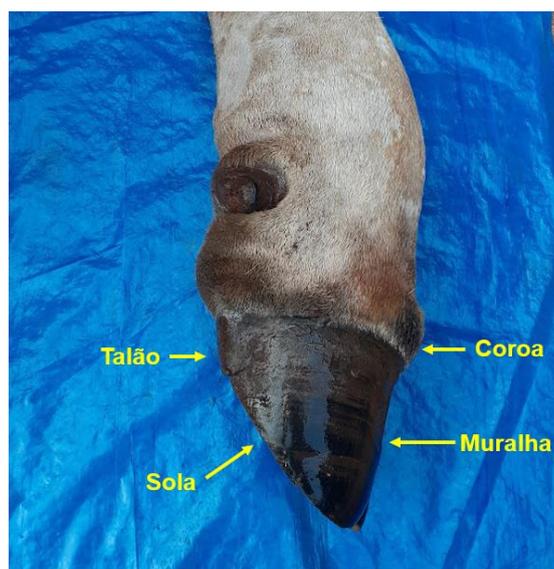
As afecções de casco, que conseqüentemente levam à claudicação, são um exemplo de enfermidades que se tornaram mais comuns em sistemas de criação intensivos. Afetando cerca de 25% das vacas leiteiras do mundo, a claudicação é apontada como a terceira maior causa de perdas econômicas no setor de bovinocultura. As lesões podais são importantes fatores que comprometem o bem-estar dos bovinos, pois a experiência dolorosa, muitas vezes prolongada, gera um forte estado de hiperalgesia e nos animais ocasionando resultados negativos na produção e reprodução do animal (GALINDO; BROOM, 2002; GREEN *et al.*, 2010; TADICH, 2011; BOND *et al.*, 2012; TADICH *et al.*, 2013; BURGI, 2021).

A fim de facilitar o diagnóstico precoce da claudicação foi desenvolvido um sistema de pontuação da locomoção do animal (MANSON, LEAVER, 1988; SPREACHER *et al.*, 1997). Essa escala avalia de forma qualitativa a marcha e a postura do animal em estação, sendo os valores mais elevados considerados indicativos de maior desconforto e piora da locomoção do animal avaliado. O uso desses escores é rápido e simples, por isso sua aplicação é recomendada no dia a dia das propriedades leiteiras. É importante considerar que seja realizado pelo mesmo avaliador e com os animais caminhando sobre o mesmo tipo de piso, evitando possíveis interferências.

O escore de locomoção, quando bem empregado, é capaz de identificar com antecedência animais com lesões de casco, não permitindo o agravamento das lesões e da condição corporal e bem-estar dos animais. Portanto, ao perceber um animal com a marcha alterada é importante separá-lo e realizar uma avaliação individualizada dos seus membros e cascos e após o diagnóstico realizar o tratamento, assim é possível prevenir os prejuízos relacionados às doenças podais (ROBINSON; JUAREZ, 2003).

As lesões no sistema locomotor dos bovinos se concentram no estojo córneo, sendo as alterações nesta estrutura responsáveis por 90% dos casos de claudicação nos bovinos (MURRAY *et al.*, 1996). O casco dos bovinos é uma estrutura queratinizada que tem como principal função a proteção dos tecidos da região distal dos dígitos, além disso auxilia na distribuição do peso e na absorção do impacto gerado ao caminhar. O conhecimento da anatomia e função dos cascos é importante para compreender e prevenir as afecções podais (ACUÑA *et al.*, 2004).

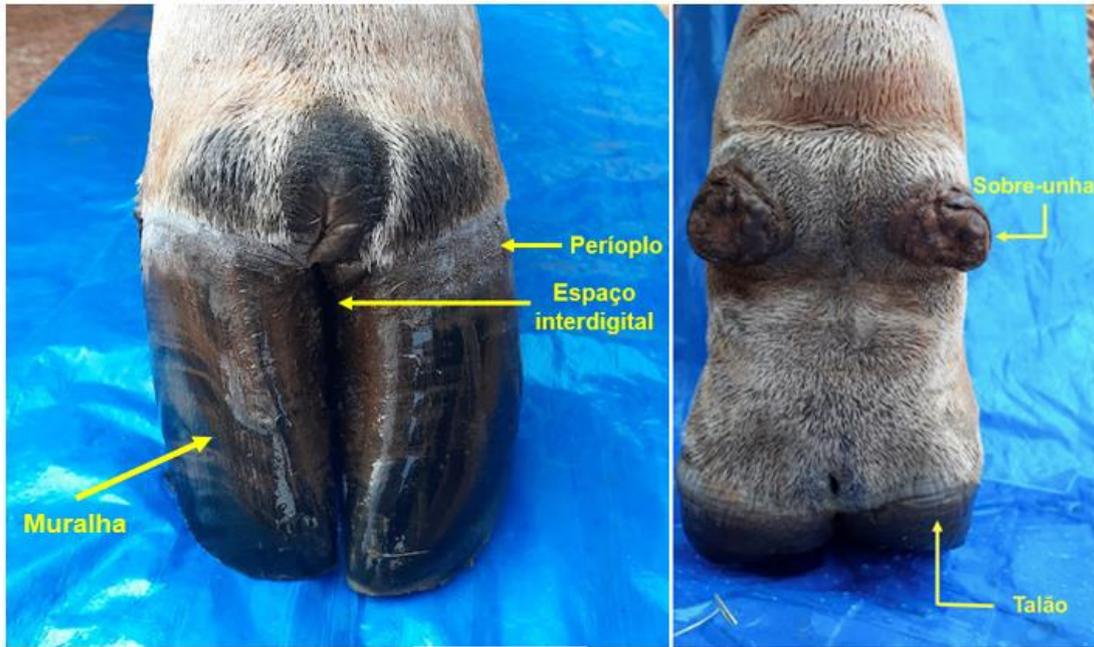
O casco, também chamado de estojo córneo, é a continuação epidérmica da pele, sendo a região mais interna, vascularizada e innervada, caracterizada como derme e conhecida como córium (TOUSSAINT RAVEN, 1989; DESROCHERS; ANDERSON, 2001; ACUÑA *et al.*, 2004). Macroscopicamente o casco pode ser dividido em quatro regiões: coronária, muralha, sola e talão (Figura 1).



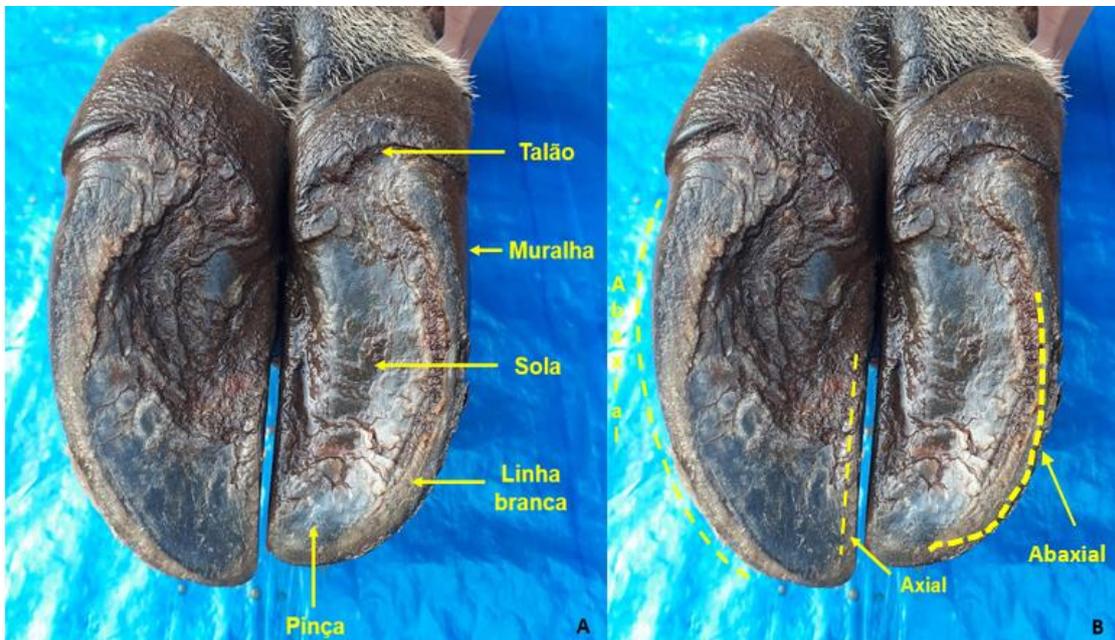
**Figura 1.** Apresentação das regiões macroscópicas do casco dos bovinos: coroa, muralha, sola e talão.

A região da coroa é a mais dorsal e proximal nos cascos, nela encontra-se o perióplo (Figura 2) que é uma faixa delgada de células queratinizadas rica em lipídios, quando palpada apresenta uma consistência mole em comparação ao tecido queratinizado do casco, cuja principal função é a união entre a pele e o estojo córneo. O perióplo é observado em toda margem abaxial da coroa do casco, histologicamente esse segmento se estende até o talão, contribuindo com a formação dessa região e auxiliando na absorção do impacto, a face palmar/plantar é mostrada na Figura 2 (TOUSSAINT RAVEN, 1989; ACUÑA *et al.*, 2004; GREENOUGH, 2007). Abaixo do perióplo, encontra-se a muralha que representa a estrutura córnea composta por células queratinizadas não sensitivas e muito rígidas que conferem proteção ao dígito do animal.

A sola é a região de apoio do casco diretamente no solo, esta junta-se com a muralha formando a linha branca (Figura 3a). A região abaxial (Figura 3b) é a porção da face da sola responsável pelo maior contato do casco com o solo e é a região que recebe o primeiro impacto durante o movimento de caminhar do animal, transferindo rapidamente o peso para as outras áreas do estojo córneo (ACUÑA *et al.*, 2004).



**Figura 2.** Face dorsal e plantar da região distal do membro de um bovino destacando o perioplo, espaço interdigital, muralha, talão e sobre-unha.



**Figura 3.** Região da sola do casco bovino. (A) Região de talão, muralha, sola, linha branca e pinça. (B) Região axial e abaxial do casco.

É possível observar nas Figuras 3a e 3b que existe uma assimetria entre os estojos córneos que revestem os dígitos, sendo que aquele que recobre o lateral apresenta-se mais largo que o medial, isso ocorre devido a biomecânica do movimento de caminhar que gera uma sobrecarga no dígito lateral, causando hipertrofia do córium e maior multiplicação dos queratinócitos e consequente maior formação de queratina, fazendo-o ficar maior para suportar mais peso. Isso ocorre, pois uma maior pressão nos dígitos acaba estimulando a proliferação dos queratinócitos, acelerando assim o crescimento do estojo córneo. Mesmo assim, a maioria das lesões de casco são observadas no dígito lateral do membro posterior (ACUÑA *et al.*, 2004; GREENOUGH, 2007). A assimetria do estojo córneo é menos evidente nos dígitos dos membros torácicos.

O crescimento do estojo córneo é considerado lento, sendo em condições ideais entre 4 a 6 milímetros por mês na muralha, enquanto que na sola esse crescimento mensal varia de 3 a 5 milímetros (GREENOUGH, 2007). Ainda, a multiplicação dos queratinócitos varia conforme a região do estojo córneo, sendo o crescimento da região abaxial mais rápido que da face dorsal da muralha (OLLHOFF; ORTOLANI, 2001) e em animais mais jovens a média de crescimento do estojo córneo é maior se comparado com animais adultos (PRENTICE, 1973). O crescimento em excesso do casco promove alterações na distribuição do peso nos dígitos, originando lesões em regiões da sola onde há sobrecarga (van AMSTEL; SHEARER, 2006).

A apara funcional dos dígitos, denominado de casqueamento funcional, deve ser uma prática rotineira em fazendas, visando reestabelecer forma e proporções corretas dos dígitos, favorecendo a distribuição correta do peso e equilíbrio a posição dos membros. Essa prática reduz a incidência de lesões podais que causam a claudicação, os animais devem passar ao menos uma vez ao ano pelo tratamento corretivo, com maior intensidade em animais confinados nos quais a nutrição traz maior crescimento dos cascos (NICOLETTI, 2004). Animais estabulados em superfícies ásperas, alimentação rica em concentrado e animais jovens podem apresentar um crescimento excessivo dos cascos (BLOWEY, 2008). Entretanto, animais em sistemas de pastagens, mesmo sem uma oferta rica de concentrado, também sofrem com lesões podais. Um bovino caminhando, exerce uma pressão e compactação sobre o solo maior que a

exercida por um trator (TORRES *et al.*, 2012), apurmos deficientes associados a drenagens incorretas das pastagens, causam grandes injúrias aos dígitos dos bovinos.

O formato do casco vai depender da taxa de crescimento *versus* a taxa de desgaste. Em bovinos estabulados é mais frequente observar o crescimento excessivo da pinça e desgaste dos talões, isso ocorre devido ao piso abrasivo e pôr o estojo córneo possuir rigidez e taxa de desgaste diferentes de acordo com a região. A rigidez dos cascos varia em ordem decrescente de dureza na seguinte ordem: muralha, sola, talão e linha branca (TOUSSAINT RAVEN, 1989). Além da influência do alojamento e manejo, enfermidades como a laminite também causam alterações no crescimento do estojo córneo (ACUÑA *et al.*, 2004).

Para a manutenção da saúde dos cascos e conseqüentemente do bem-estar, a apara, tanto funcional como corretiva, do estojo córneo são procedimentos importantes no manejo dos animais de uma propriedade. Tendo como principais objetivos: reconhecimento precoce das lesões mais comuns naquele ambiente, tratamento das lesões, regulação da distribuição de forças por todo o dígito e entre os dígitos de cada membro, além de limpeza e modelagem do talão e espaço interdigital para evitar acúmulo de matéria orgânica e proliferação de agentes infecciosos (TOUSSAINT RAVEN, 1989; ACUÑA *et al.*, 2004; van der TOL *et al.*, 2004).

Além desses fatores citados anteriormente, a apara do casco auxilia na distribuição do apoio entre os dígitos, estudo revela que após o desbaste do estojo córneo a área de contato com o solo é, na média, 20 % maior quando comparado com antes da apara, no entanto, há variações individuais entre os animais (ZUZ *et al.*, 2017).

O maior entrave para implantar um programa de apara funcional nas fazendas está em convencer o proprietário. A relutância em investir na contratação de um profissional, compreender as vantagens e valorizar o esforço físico do profissional que trabalha com podologia bovina, impede que a prática se torne popular e comum na rotina das fazendas, a rotina da apara funcional deveria ser tão comum, como uma análise de leite para detectar mastite subclínica (NICOLETTI, 2004).

Ainda que o registro de incidência e prevalência de claudicação bovina nas fazendas não seja comum e que ocorra uma dificuldade por parte dos profissionais para classificar as lesões encontradas nas fazendas, a apara funcional dos dígitos se faz importante devido a predominância de lesões nos rebanhos leiteiros. Fazendas que realizam o procedimento de apara com frequência, identificam em boa parte do rebanho, animais com diferentes alterações na região do casco como: hematomas de sola, doenças da linha branca e dermatite digital (BURNELL; READER, 2017; SADIQ *et al.*, 2020).

A apara dos cascos é uma prática comum na produção leiteira norte americana, aproximadamente 85% dos rebanhos passam por apara funcional, ao menos uma vez ao ano (STODDARD; CRAMER, 2017). Tal fato mostra a importância dada à prevenção das afecções podais, já que a claudicação favorece grandes perdas econômicas ligadas a fatores como custo com tratamento, mão de obra especializada, descarte do leite, diminuição da produção de leite, problemas reprodutivos, entre outros. Esse custo é ainda maior se combinado com a idade do animal e momento da lactação em que a claudicação ocorre, isso porque nas vacas pluríparas a consequência negativa da claudicação na produção de leite, muitas vezes, é maior que nas vacas primíparas devido ao maior volume de leite produzido pelas primeiras. Se a lesão podal se torna presente no início da lactação, as consequências são ainda maiores (BEWLEY; DOLECHECK, 2019).

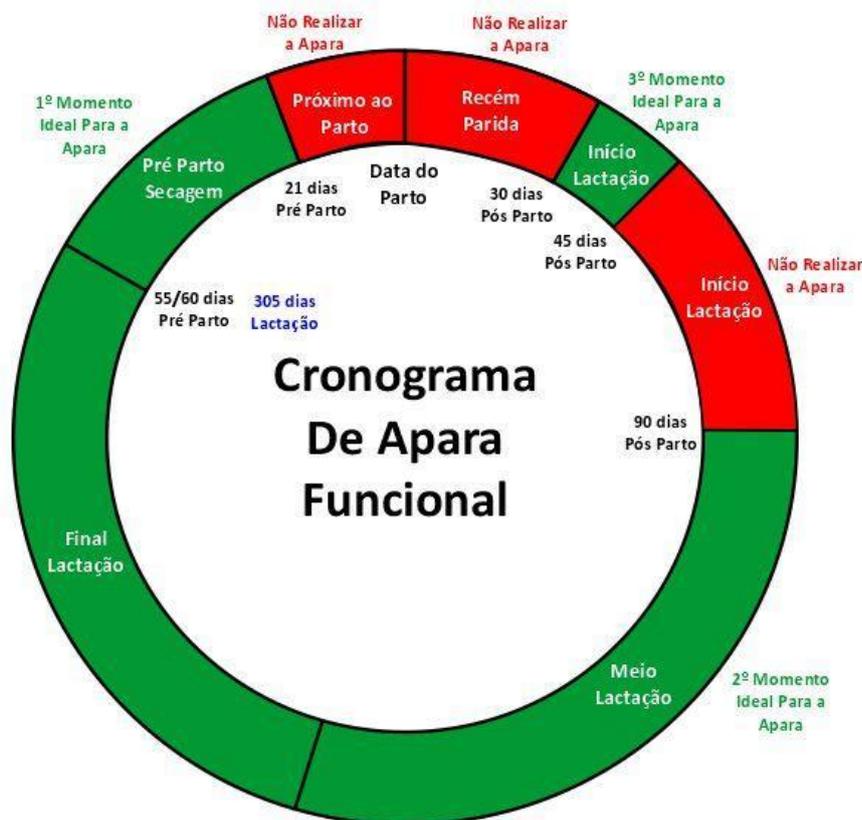
Evitar a claudicação seguindo um programa de apara de casco, é o modo de restaurar o ângulo mais vertical do dígito, encurtando o comprimento da muralha dorsal e a espessura da sola. Independente da técnica o objetivo da apara funcional é trazer uniformidade e balancear a distribuição de peso entre os dígitos e membros (STODDARD; CRAMER, 2017). Os crescentes estudos biomecânicos e cinemáticos *in vivo* e *ex vivo* apontam que forças biomecânicas resultam em lesões não infecciosas nos dígitos, a apara funcional associada a fatores ambientais e comportamentais, influenciam diretamente na biomecânica do indivíduo (MULLING, 2019).

Desenvolver um cronograma de apara que reflita em uma vida produtiva livre de lesões podais, reduz prejuízos na produção desde a primeira concepção. Nos últimos anos, autores revelam que animais que apresentaram lesões durante a primeira gestação e durante sua primeira lactação, devido aos danos

adjacentes causados nas estruturas dos dígitos, possuem uma probabilidade maior de sofrer a mesma lesão podal em suas próximas lactações (BURGI, 2021).

A apara do casco programada deve levar em consideração o conforto no período de repouso, manejo na condução dos períodos reprodutivos, alimentação e ordenha. Compreender as fases produtivas e reprodutivas da vaca leiteira, impede que a apara prejudique a próxima lactação. O momento da secagem e posterior ao momento do parto, são os pontos de partida para programar o indivíduo, conforme Figura 4 (KAMMEL *et al.*, 2019).

### Momento Ideal Para a Apara Funcional



**Figura 4.** Cronograma de apara funcional - Momento ideal para a apara funcional. Fonte: Adaptado de BURGI 2021 Sure Step consulting international LLC. (<https://surestepconsulting.co/Collaboration>).

Vinte e um dias que antecedem o parto e trinta dias após o parto são os momentos mais críticos na produção da vaca leiteira, nessa fase ocorre variações hormonais, alterações enzimáticas, mudanças sociais e rotineiras, além de o animal apresentar uma hipersensibilidade a dor. A apara funcional e o tratamento devem ser realizados no início do período pré-parto, sendo esse o primeiro momento ideal para aparar os cascos (BURGI, 2021), no final da lactação pode ocorrer maior assimetria e desconfiguração das características do casco devido às irregularidades do crescimento do tecido córneo, por conta do maior intervalo entre as aparas (BLOWEY, 2008). Animais que não passam por apara funcional preventiva no período de descanso da glândula mamária, apresentam mais chances de lesões entre oitenta e cem dias de lactação, fase essa que corresponde muito próximo ao pico de lactação, resultando em queda na curva de lactação (BURGI, 2021)

O segundo melhor momento para a apara funcional é após o pico de produção leiteira, entre 120 e 180 dias após a primeira apara, nesse momento, em uma fazenda que mantém um controle de aparas, esse indivíduo está passando por sua segunda apara preventiva. Usando como exemplo o tempo de lactação representado na figura 4, uma vaca que recebe a apara nos dois primeiros momentos citados, passa por dois tratamentos anuais, considerando índices reprodutivos próximos do ideal, evita-se aparas excessivas e posterior aparecimento de claudicação (BURGI, 2021).

É possível observar que há um terceiro momento ideal para a apara funcional, conforme apresentado na figura 4, entre os trinta dias e quarenta e cinco dias pós-parto. Esse manejo se faz necessário quando há crescimento excessivo das estruturas do casco após o parto, animal não passou pela apara no momento da secagem, ou se foi identificado o início de uma lesão podal, comum nesse momento devido às alterações metabólicas que ocorrem após o parto e pela elevada prevalência de lesões de linha branca nos primeiros 120 dias após o parto (BURGI, 2021).

Kammel e colaboradores (2019) afirmam que se os produtores optam por 2 a 4 visitas anuais, permitem a apara funcional de todo o rebanho dividido entre atendimentos, esse sistema nem sempre é o ideal, mas é o preferido pelos profissionais da podologia bovina e facilita sua programação, já outras fazendas optam por casquear todo o rebanho a cada 120 dias. O cronograma apresentado

na figura 4, serve como uma referência simples para os momentos quando é importante realizar a apara, deve-se considerar que o número de animais atendidos varia durante as visitas. Em cada momento, é importante incluir os animais que apresentam episódios de claudicação entre as aparas para o rápido diagnóstico, intervenção e resolução do processo que acomete o animal (BURGI, 2021).

Na literatura especializada existem algumas técnicas para a apara do casco dos bovinos sendo que pequenas particularidades dos métodos e as características da sola após o procedimento diferencial entre elas (TOUSSAINT RAVEN, 1985; BLOWEY, 1993; SHEARER; van AMSTEL, 2001; SIEBERT, 2005; GREENOUGH, 2007).

Aparentemente o método de Kansas é o mais antigo dentre as diferentes abordagens. Ele foi desenvolvido por Rex Siebert na década de 40 e descrito por Ladd Siebert em 2005. Tal procedimento baseia-se na retirada do excesso do tecido queratinizado nas regiões axial e abaxial da muralha, respeitando, o que os autores consideram como a aparência natural da sola, uma inclinação de 3 a 4° em direção à face abaxial. Segundo os autores, essa conformação da sola melhora a distribuição do peso em direção à região da muralha do casco e evita uma força excessiva sobre o ligamento cruzado no espaço interdigital do dígito (SIEBERT, 2008).

O método descrito por Siebert (2008) é o único que considera que a sola deve ter uma leve angulação, todos os outros métodos descritos relatam que a sola deve ser plana, sem angulação, para aumentar a área de contato desta estrutura com o solo (TOUSSAINT-RAVEN, 1985; BLOWEY, 1993).

O método da linha branca, descrito por Roger Blowey em 1993, baseia-se em medidas padronizadas para realização da apara. Nesse método a média do comprimento da face dorsal da muralha deve medir 7,5 cm, após o primeiro corte, e a sola deve ser retirada até o reaparecimento da linha branca, que é a conexão entre a muralha e a sola, mantendo-a reta e aumentando seu contato com o solo. Nesse caso não há uma altura definida para o talão, este deve ser aparado até atingir a mesma altura do talão do dígito medial, que normalmente apresenta-se menor em comparação ao lateral antes da apara funcional (BLOWEY, 1993).

Já o método holandês, desenvolvido por Toussaint Raven em 1985, é atualmente o mais difundido e utilizado mundialmente. Este consiste em cortar a muralha dorsal em um comprimento de 7,0 - 7,5 cm e em seguida a sola é desbastada até encontrar o limite proximal do primeiro corte, originando uma sola com espessura na região anterior de 5 mm. Neste método o dígito medial deve ser o primeiro a ser desbastado e posteriormente servir como modelo para a apara do dígito lateral (TOUSSAINT RAVEN, 1985). É muito importante considerar o tamanho do animal, idade e distância que esse animal percorre até a sala de ordenha, para evitar possíveis rupturas do estojo córneo e exposição do córium. Não recomendamos utilizar o dígito medial como modelo para o desbaste do estojo córneo lateral, pois isso aumenta o risco de exposição do tecido sensível e hemorragia no dígito maior.

Em entrevista com 44 profissionais que trabalham com desbaste do casco em uma conferência internacional de casqueadores em 2014, 55% dos entrevistados diziam utilizar a apara funcional descrita por Toussaint Raven (1985), 17% usavam o método da linha branca descrito por Blowey (1993), 12% o método Kansas descrito por Siebert (2008) e 15% usavam uma combinação de métodos (STODDARD; CRAMER, 2017). Um estudo nacional realizou uma pesquisa semelhante e questionou aos profissionais da podologia bovina sobre aos métodos utilizados por eles, dos 67 respondentes, 34 (50,7%) profissionais descreveram que utilizam um método para realizar o desbaste do casco, destes, 43,2% apontaram o método holandês como prática aplicada rotineiramente, 27% a metodologia da linha branca e 16% o método Kansas. Outros 33 (49,3%) revelaram que não utilizam metodologia específica (GARGANO, 2020).

O método holandês é o mais difundido entre os profissionais da podologia no mundo, assim como entre os pesquisadores, entretanto nos últimos anos o comprimento adequado do primeiro corte na muralha dorsal e a espessura da sola estão sendo constantemente questionados. Seguindo este método, o profissional deve aparar a face dorsal do dígito em um comprimento de 75mm, considerado seguro para vacas holandesas a mais de 30 anos, sendo essas as recomendações fornecidas por Toussaint Raven (1985). Entretanto, Nuss e Paulus (2006) revelaram que ao realizar a apara do casco com esse método no dígito lateral, a espessura da sola ficou abaixo de 5 mm, ou seja, diminuiu a sua

capacidade de proteção tornando o casco vulnerável a perfurações ou ao desgaste excessivo provocado pelo piso.

Segundo Archer e colaboradores (2015), 95% das peças anatômicas dos membros pélvicos de vacas holandesas utilizadas em seu estudo não se enquadram nas métricas do método holandês. Ainda revelaram que com o aumento da idade dos animais, menor é o número de peças que se encaixavam nas métricas do famoso método, desta forma evidenciando que para animais mais velhos a apara deve ser realizada com cautela e que devemos repensar os métodos padronizados, ou seja, que utilizam medidas fixas pré-determinadas para os animais. De acordo com os autores, para animais acima de quatro anos os práticos devem considerar uma medida de 90 mm.

O estudo de Archer e colaboradores (2015) considerou apenas o fator idade dos animais, entretanto acreditamos que fatores como idade e peso devem ser considerados ao realizar a apara, pois podem contribuir com o tamanho dos dígitos dos bovinos. É improvável que profissionais experientes usem somente uma medida padrão de apara para todas as raças e idades dos bovinos, por causa disso há uma grande discussão para descrever o comprimento ideal da parede dorsal e espessura correta da sola.

Em recente estudo realizado com peças anatômicas de bovinos da raça nelore, constatou-se que para animais mais velhos e mais pesados a apara com o método holandês pode ser um fator de risco para a sola extremamente fina e, além disso, foi comprovado que variáveis como peso e idade dos animais determinam maiores tamanhos de dígitos nos bovinos da raça nelore (GARGANO, 2020).

Em conclusão, o conhecimento da anatomia macroscópica, dos fatores que interferem na qualidade, no crescimento/abrasão e na função do estojo córneo são de extrema importância para o prático da área da podologia. Ainda, reconhecer as características alteradas do casco e da marcha dos bovinos auxiliam na identificação do animal doente e no diagnóstico precoce das lesões de casco. O profissional precisa conhecer os benefícios da apara do casco, assim como, dos efeitos negativos que acompanham a claudicação no rebanho para atrair a atenção dos produtores para esta área. Por fim, na literatura são descritos diferentes métodos de apara do casco sendo o método holandês o mais conhecido e difundido, entretanto, nos últimos anos, estudos revelam que

as métricas para o desbaste do casco com esse método serão modificadas para evitar o aparecimento de sola fina no casco.

## Referências

ACUÑA, R.; ALZA, D. H.; JUNQUEIRA, J. B.; NORDLUND, K.; RAMOS, J. M. **Cojeras del Bovino: Fisiopatología y profilaxis**. 1º Ed. Buenos Aires: Inter-Médica, 2004, 152p.

ARCHER, S.C.; NEWSOME, R.; DIBBLE, H.; STURROCK, C.J.; CHAGUNDA, M.G.G.; MASON, C.S.; HUXLEY, J.N. Claw length recommendations for dairy cows foot trimming. **Veterinary Record**, v. 177, n. 9, 2015.

BEWLEY, J; DOLECHECK, K. **Each case of lameness has a unique cost**, 2019. Disponível em: <https://hoards.com/print-article-25273-permanent.html>. Acesso em 2 de outubro de 2021.

BLOWEY, R. **Cattle lameness and hoofcare: an illustrated guide**. 1st ed: Farming press – Ipswich, UK, 1993, 232p.

BLOWEY, R. W. Claudicação. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. **Medicina bovina: doenças e criação de bovinos**, 2 ed., São Paulo: Roca, p. 362-384, 2008.

BOND, G. B.; ALMEIDA, R.; OSTRENSKY, A.; MOLENTO, C. F. M. Métodos de diagnóstico e pontos críticos de bem-estar de bovinos leiteiros. **Ciência Rural**, v. 42, n. 7, p. 1286-1293, 2012.

BURGI, K. **5 steps to setting up a successful timed hoof-trimming program**, 2021. Disponível em: <https://www.progressivedairy.com/topics/herd-health/5-steps-to-setting-up-a-successful-timed-hoof-trimming-program>. Acesso em: 5 de outubro de 2021.

BURNELL, M. C., READER, J. D. A retrospective analysis of field data to investigate the prevalence of foot lesions in dairy cows in the south west of england. A comparison from 2008 to 2015. In: Proceeding of 19th International Symposium and 11th Conference Lameness in Ruminants, **Proceedings...** Munich - Germany, p. 94-95, 2017.

DESROCHER, A.; ANDERSON, D.E. Anatomy of distal limb. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 17, n. 1, p. 25 – 37, 2001.

GALINDO, F.; BROOM, D. Effects of lameness of dairy cows. **Journal of Applied Animal Welfare Science**, v. 5, p. 193-201, 2002.

GARGANO, R.G. **Avaliação da metodologia holandesa de aparar dos cascos para bovinos da raça Nelore e fatores de influência na morfometria dos dígitos**. 146 f. Tese (Doutoramento em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

GREEN, L. E.; BORKERT, J.; MONTI, G.; TADICH, N. Associations between lesion-specific lameness and the milk yield of 1635 dairy cows from seven herds in the Xth region of Chile and implications for management of lame cows world wide. **Animal Welfare**, v.19, p. 419-427, 2010.

GREENOUGH, P. **Bovine laminitis and lameness: a hands-on approach**. 1st ed: Elsevier – Philadelphia, USA, 2007, 319p.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa da Pecuária Municipal (PPM)**, 2020. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/31722-ppm-2020-rebanho-bovino-cresce-1-5-e-chega-a-218-2-milhoes-de-cabecas>. Acesso em 03 de outubro de 2021.

KAMMEL, D. W; BURGI, K.; LEWIS, J.; EVERT, K. Determining Hoof Trimming Schedule Based on Various Management Factors. In: Proceeding of 20th International Symposium and 12th Conference Lameness in Ruminants, **Proceedings...** Tokyo - Japan, p. 97-100, 2019.

MANSON, J. F.; LEAVER J. D. The influence of concentrate amount on locomotion and clinical lameness in dairy cattle. **British Society of Animal Production**. v. 47, p. 185-190, 1988.

MURRAY, R. D.; DOWNHAM, D. Y.; CLARKSON, M. J.; FAULL, W. B.; HUGHES, J. W.; MANSON, F. J.; WARD, W. R. Epidemiology of lameness in dairy cattle: description and analysis of foot lesions. **Veterinary Record**, v. 138, n. 24, p. 586–591, 1996.

MULLING, W. K. C. Biomechanics of the bovine foot. In: Proceeding of 20th International Symposium and 12th Conference Lameness in Ruminants, **Proceedings...**Tokyo - Japan, p. 32-37, 2019.

NICOLETTI, J. L. M. **Manual de podologia bovina**. Barueri: Manole, 2004. 126p.

NUSS, K.; PAULUS, N. Measurements of claw dimension in cow before and after functional trimming: a post-mortem study. **Veterinary Journal**, v. 172, n. 2, p. 284 – 292, 2006.

OLLHOFF, R. D.; ORTOLANI, E. L. Comparação do crescimento e do desgaste do casco em bovinos taurinos e zebuínos. **Ciência Rural**, v. 31, n. 1, p. 67 – 71, 2001.

PRENTICE, D.R. Growth and wear rates of hoof horn in Ayrshire cattle. **Research Veterinary Science**, v. 14, n. 3, p. 285 – 290, 1973.

ROBINSON, P. H.; JUAREZ, S. T. Locomotion scoring your cows: use and interpretation. In: Proceedings Mid-South Nutrition Conference, **Proceedings...**2003.

SADIQ, M. B.; RAMANOON, S. Z.; MANSOR, R.; SYED-HUSSAIN, S. S.; MOSSADEQ, W. M. S. Claw trimming as a Lameness Management Practice and the Association with Welfare and Production in Dairy Cows. **Animals**, v. 10, n. 1515, p. 1 – 18, 2020.

SHEARER, J.K; van AMSTEL, S.R. Functional and corrective claw trimming. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 17, n. 1, p. 53 – 72, 2001.

SIEBERT, L. **A Second Opinion: Are we trimming our dairy cows correctly?** 2008. Disponível em: <https://www.progressivedairy.com/topics/herd-health/0908-pd-a-second-opinion-are-we-trimming-our-dairy-cows-correctly>. Acesso em 08 de outubro de 2021.

SPRECHER, D. J.; HOSTETLER, D. E.; KANNEENE, J. B. A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. **Theriogenology**, v. 47, p. 1179-1187, 1997.

STODDARD, G. C.; CRAMER, G. A review of the relationship between hoof trimming and dairy cattle welfare. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.33, p. 365 – 375, 2017.

USDA – United States Department of Agriculture. **Ranking Of Countries That Export The Most Beef**, 2020. Disponível em: <https://www.nationalbeefwire.com/ranking-of-countries-that-export-the-most-beef>. Acesso em 03 de outubro de 2021.

TADICH, N. Bienestar animal en bovinos lecheros. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 24, n. 3, p. 293-300, 2011.

TADICH, N.; TEJEDA, C.; BASTIAS, S.; ROSENFELD, C.; GREEN, L. E. Nociceptive threshold, blood constituents and physiological values in 213 cows with locomotion scores ranging from normal to severely lame. **The Veterinary Journal**, v. 197, p. 401-405, 2013.

TORRES, J. L. R.; JUNIOR, D. J. R.; SENE, G. A.; JAIME, D. G.; VIEIRA, D. M. da S. Resistência à penetração em área de pastagem de capim Tifton, influenciada pelo pisoteio e irrigação. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 1, p. 232-239, 2012.

TOUSSAINT RAVEN, E. Principles of claw trimming. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 1, n. 1, p. 93 – 107, 1985.

TOUSSAINT RAVEN, E. **Cattle footcare and claw trimming**. 3rd impression: Farming press – Ipswich, UK, 1989, 128p.

van AMSTEL, S. R.; SHEARER, J.K. **Manual for treatment and control of lameness in cattle**. Iowa: Blackwell, 2006, 212p.

van der TOL, P. P. J.; van der BEEK, S. S.; METZ, J. H. M.; NOORDHUIZEN-STASSEN, E. N.; BACK, W.; BRAAM, C. R.; WEIJS, W. A. The effect of preventive claw trimming on weight bearing and force balance on the claws of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 6, p. 1732 – 1738, 2004.

ZUZ P.; VOLLAND M.; CHOUCAIR A. M.; MÜLLER K. E. Trimming on demand – Evaluation of the optimal point in time for functional claw trimming by using a pressure measurement mat. In: Proceedings of 19th International Symposium

and 11th Conference Lameness in Ruminants, **Proceedings...** Munich - Germany, p. 98-99, 2017.

## **Autores**

Glauber de Oliveira Melo<sup>1</sup>, Gabriela Alves Reis<sup>2</sup>, Bruna Stanigher Barbosa<sup>2</sup>, Ronaldo Gomes Gargano<sup>3</sup>, Fabio Celidonio Pogliani<sup>4,\*</sup>

1. Veterinário autônomo.
2. Doutorandas do Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da FMVZ/USP.
3. Professor Adjunto na Universidade Paulista campus Campinas/Swift.
4. Professor Doutor, no Departamento de Clínica Médica da FMVZ/USP.

\* Autor para correspondência: [fabiocp@usp.br](mailto:fabiocp@usp.br)

## **SEÇÃO 3**

---

**Reprodução e melhoramento genético animal**

---

## Estresse térmico: desafios e perspectivas para seleção na raça Girolando

Renata Negri, Darlene Daltro, Sabrina Kluska, Pamela Itajara Otto, Luiz Sergio De Almeida Camargo, Marcos Vinícius G. Barbosa da Silva

### 1. Introdução

A pecuária leiteira, no Brasil, pode ser dividida em diferentes níveis organizacionais e tecnológicos, que vão desde as pequenas propriedades rurais até grandes cooperativas e laticínios (WILLERS *et al.*, 2014), gerando empregos e obtenção de alimentos com qualidade (WERNCKE *et al.*, 2016). Visando o aumento da produção e da qualidade, melhorias genéticas e de manejo dos rebanhos (ambiente) têm sido efetuadas ao longo dos anos, a fim de tornar as vacas mais eficientes e as propriedades mais lucrativas.

Devido à continentalidade do país e à grande variação dos sistemas de produção, se tornou essencial o desenvolvimento de uma raça que combinasse a alta capacidade de produção de leite à rusticidade. Sendo assim, por volta de 1940, foram realizados os primeiros cruzamentos entre as raças Holandês e Gir, ainda de modo empírico, dando origem à população que foi posteriormente chamada de raça Girolando. Os produtos desse cruzamento se destacavam pela excelente produtividade, pela alta fertilidade e pelo bom vigor (SILVA *et al.*, 2021). Com os bons resultados obtidos, a prática desse cruzamento espalhou-se rapidamente por todo o Brasil e, em pouco tempo, o Girolando já era o gado predominante nas propriedades brasileiras.

Em 1996, ocorreu a oficialização da raça Girolando pelo Ministério da Agricultura, e a entidade Associação Brasileira dos Criadores de Girolando, foi encarregada do Registro Genealógico destes animais, tendo por finalidade principal incrementar, de maneira racional, a criação da raça Girolando, congregando e defendendo os interesses de seus associados (FREITAS *et al.*, 2007).

## 2. Teste de Progênie e o Programa de Melhoramento Genético da raça Girolando (PMGG)

Posteriormente, em 1997, foi implantado o teste de progênie da raça Girolando e, em 2004, os primeiros resultados da avaliação genética para produção de leite em até 305 dias, de seis touros Girolando, foram publicados pela Embrapa Gado de Leite e Associação Brasileira de Criadores de Girolando. Em 2005, a publicação dos resultados da avaliação genética foi feita em forma de folder e, em 2007, com a implantação do Programa de Melhoramento Genético da raça Girolando (PMGG), passaram a ser publicados no formato de sumário (FREITAS *et al.*, 2007), o qual é utilizado desde então.

Os avanços tecnológicos permitiram incorporar informações de alguns marcadores moleculares, em 2009: Kappa-caseína (K-CN), diacilglicerol O-aciltransferase 1 (DGAT1), deficiência de Adesão Leucocitária Bovina (BLAD) e osteopontina (OPN), além de ter sido iniciada a coleta de informações do sistema de avaliação linear do Girolando (SALG) (Freitas *et al.*, 2009). No ano de 2010, houve a ampliação do número de marcadores publicados:  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -LGB), deficiência da uridina monofosfato sintase (DUMPS) e doença do complexo de má formação vertebral (CVM) (SILVA *et al.*, 2010).

Os primeiros resultados da habilidade prevista de transmissão padronizada (STA) para conformação (SILVA *et al.*, 2011) foram publicados em 2011 e, no ano seguinte, foi incorporada a avaliação genética para a idade ao primeiro parto (SILVA *et al.*, 2012). Em 2013, juntamente com o Sumário de Touros, também foi lançado o Sumário de vacas Girolando - Top 1.000, com a classificação das mil vacas de maior valor genético para a produção de leite da raça (FREITAS *et al.*, 2013). E, em 2016, foi incluída na divulgação a informação do marcador molecular Beta-caseína (B-CN) (SILVA *et al.*, 2016).

Dois anos depois do lançamento do Sumário de Fêmeas, em 2018, foi desenvolvida uma ferramenta genômica para a raça Girolando, chamada Clarífide® Girolando, fruto da parceria público-privada entre a Embrapa Gado de Leite, Associação Brasileira dos Criadores de Girolando, CRV-Lagoa e Zoetis. A partir do lançamento dessa ferramenta, os touros candidatos ao teste de progênie puderam ser escolhidos de forma mais precisa, tendo sido observado um salto genético a partir de então. Em 2019, foram publicadas pela primeira vez as PTAs genômicas (GPTA) para produção de leite em até 305 dias, para idade

ao primeiro parto e intervalo de partos por meio do uso da ferramenta Clarifide® Girolando (SILVA *et al.*, 2019). E por fim, no ano de 2021, o índice de longevidade foi incluído na avaliação genética e genômicas da raça (SILVA *et al.*, 2021).

São notáveis os grandes avanços obtidos na raça Girolando. Em termos de progresso científico, as avaliações genéticas evoluíram muito no tocante à modelagem estatística, ampliação das características avaliadas e recentemente com as publicações das GPTAs. Além disso, é nítido que o melhoramento genético dos rebanhos vem sendo realizado com sucesso nas propriedades que fazem o uso adequado desta ferramenta. O resultado pode ser comprovado analisando a produção de leite média (kg) por lactação na raça Girolando, a qual, em 1989, era de aproximadamente 1.990 kg e, em 2018, já ultrapassava os 5.400 kg.

Atualmente, a raça Girolando é responsável por 80% do total de leite bovino produzido no país (SILVA *et al.*, 2021). O sucesso no uso da raça também reflete nas estatísticas do setor de laticínios do país. Em 1997, o Brasil produzia 18,7 bilhões de litros de leite (ROCHA *et al.*, 2020), enquanto que em 2020, a produção estimada já ultrapassava os 25,5 bilhões de litros de leite (CONAB, 2021). No entanto, é importante salientar que apesar dos avanços científicos, há oscilação nos índices produtivos e reprodutivos dos bovinos leiteiros, principalmente em virtude dos fatores climáticos (CONAB, 2021).

Estes fatores climáticos podem afetar tanto a produção de alimentos, o que irá impactar a produção de leite, quanto as condições ambientais dos animais, muitas vezes ocasionando quadros de estresse térmico, principalmente nos meses mais quentes do ano. O estresse térmico tem como principal efeito a redução na produção de leite dos animais, e como efeitos secundários impactos na saúde, reprodução e bem-estar dos animais (TAO *et al.*, 2020). Neste sentido, a investigação dos efeitos do estresse térmico na produção animal e seu impacto econômico na raça Girolando são de extrema importância, bem como a possibilidade de praticar a seleção dos animais que sejam capazes de manter a produtividade, independente da condição ambiental.

### 3. O estresse térmico

Por definição, o estresse térmico pode ser descrito como o somatório de forças externas aos animais homeotérmicos, causando impactos negativos no organismo (DIKMEN; HANSEN, 2009) e desencadeando respostas comportamentais, fisiológicas e metabólicas (KOLMODIN *et al.*, 2002), que podem levar à redução da produção, comprometimento reprodutivo e deterioração das condições de vida (saúde e bem-estar) e, em casos extremos, até à morte (MADER *et al.*, 2006).

Historicamente, os programas de melhoramento genético de bovinos de leite se concentraram na seleção para a produção de leite (HOULAHAN *et al.*, 2021). No entanto, com a seleção intensa para produção, houve um comprometimento da termotolerância dos animais quanto às variações ambientais, tornando-os mais sensíveis à medida em que a seleção para produção era intensificada (correlação genética -0,30, RAVAGNOLO & MISZTAL, 2000).

Segundo Bouraoui *et al.* (2002), os animais de alto mérito genético para produção de leite são os mais afetados pelo estresse térmico. Isto ocorre porque os animais são dependentes de grande ingestão de matéria seca, resultando em excesso de calor metabólico e, portanto, necessitam de mecanismos termorregulatórios eficazes para manter a homeostasia fisiológica (BERTONCELLI *et al.*, 2013). Dessa forma, vacas de alta expressão genética para a produção de leite são mais sensíveis aos efeitos do estresse térmico do que aquelas de menor produção (SILVA; SOUZA JÚNIOR, 2013).

Diante da exigência de eficiência produtiva dos sistemas de produção nos últimos anos, o estresse térmico passou a ser considerado um dos fatores de maior impacto econômico para a pecuária leiteira, principalmente em países de clima tropical (POLSKY; KEYSERLINGK, 2017). Além das perdas econômicas relacionadas à produtividade, a exposição aos fatores estressores incide em impactos negativos na saúde e bem-estar animal (NARDONE *et al.*, 2010).

É relatado que animais *Bos primigenius indicus* têm uma capacidade maior de regular a temperatura corporal quando comparados a animais *Bos primigenius taurus* (MOURA *et al.*, 2021), uma vez que os primeiros foram submetidos à seleção natural em ambiente tropical por milhares de anos (OTTO *et al.*, 2019). Parte dessa capacidade de regulação da temperatura corporal

resulta em menores taxas metabólicas e maior capacidade de perda de calor por meio de mecanismos termorreguladores, o que auxilia na prevenção do estresse por calor (Hansen, 2004). Em contraste, os animais *Bos primigenius taurus* são mais suscetíveis aos efeitos deletérios do estresse térmico (RENAUDEAU *et al.*, 2012) devido à grande quantidade de calor metabólico produzido pela alta produção de leite (GANTNER *et al.*, 2017), ou seja, a seleção para animais mais produtivos resultou na seleção de animais mais susceptíveis ao estresse térmico. O grande desafio para animais de alta produção leiteira criados em ambientes quentes é dissipar o calor produzido pelo próprio metabolismo, dado que há elevação da produção de calor metabólico no animal com o aumento da produção de leite (WEST *et al.*, 2003).

Além do potencial genético, o ambiente é outro fator que influencia diretamente a expressão fenotípica das características. Para que os bovinos leiteiros possam expressar seu potencial genético para características de importância econômica, eles devem ser criados em condições meteorológicas adequadas, ou seja, devem ser mantidos na zona de termoneutralidade, com alimentação adequada, tanto em quantidade e qualidade. Contudo, grande parte do leite no Brasil é produzido em sistemas de pastejo, em ambientes desafiadores, onde os animais estão propensos ao estresse térmico, e essas circunstâncias devem ser consideradas no objetivo de criação (FERRAZ; DE FELÍCIO, 2010). Uma alternativa para superar esses desafios, buscando produzir leite de forma eficiente em regiões tropicais e subtropicais, é a seleção para termotolerância dentro das raças puras, além da utilização de cruzamentos e, ou, raças sintéticas ou compostas, com alguma fração de sua composição racial oriunda de *Bos primigenius indicus*, como a raça Girolando (OTTO *et al.*, 2019). No entanto, a suposição é de que os distintos cruzamentos sob controle de genealogia (CCG) para formação da raça Girolando podem resultar em diferentes respostas ao estresse térmico, particularmente para os CCGs com maior proporção de *Bos primigenius taurus*.

Na literatura são encontrados poucos estudos que tratam da avaliação da termotolerância de vacas Girolando, sendo que aqueles existentes, foram conduzidos em condições limitadas e com números reduzidos de unidades experimentais. No entanto, entre as raças zebuínas, a superioridade da raça

Girolando no Brasil já foi investigada e comprovada quando se trata de respostas fisiológicas ao estresse térmico (CARDOSO *et al.*, 2015).

Estudo realizado por Lima *et al.* (2013), no período de verão, no estado de Pernambuco, utilizando 15 animais de três CCGs: 1/2, 5/8 e 3/4 Holandês-Gir (H:G, determinada pela proporção da raça Holandesa), ou seja, 05 vacas de cada grupo genético, mostrou que animais do grupo 1/2 H:G apresentam maior adaptabilidade ao calor. Como esperado, os animais com maior proporção das raças zebuínas na composição genética são mais tolerantes às condições de calor.

Estudo semelhante, realizado por Costa *et al.* (2015) no estado do Ceará, também apontou a superioridade de vacas 1/2 H:G para termorregulação, quando comparadas a vacas 3/4 H:G em condições de estresse térmico. De acordo com Hansen (2004), a maior resistência de bovinos de origem zebuína (*Bos primigenius indicus*) ao estresse térmico, comparados aos bovinos taurinos (*Bos primigenius taurus*) é explicada pelo maior volume de glândulas sudoríparas verificadas nos primeiros, consequência da adaptação ao ambiente natural.

Em um estudo de associação de todo o genoma (GWAS) e análises pós-GWAS para estresse por calor em uma população experimental Gir x Holandês F2, realizado por Otto *et al.* (2019), quatro genes candidatos (*LIF*, *OSM*, *TXNRD2* e *DGCR8*) envolvidos com processos biológicos associados à resposta aos efeitos do estresse foram identificados. De acordo com a abordagem de origem dos alelos da raça (BOA), os autores descreveram que alelos oriundos da raça Holandesa podem estar associados à melhor resposta aos efeitos do estresse térmico, o que pode ser explicado pelo fato de que os animais desta raça são mais afetados do que os animais Gir e, portanto, exigem uma arquitetura genética para defender o corpo dos efeitos deletérios do estresse térmico (OTTO *et al.*, 2019).

Para contornar os desafios impostos nos sistemas de criação em regiões tropicais, duas estratégias podem ser utilizadas: as modificações estruturais do ambiente de produção e a seleção de animais tolerantes ao calor. As modificações estruturais do ambiente, apesar de promoverem condições de conforto térmico no local onde são instaladas, requerem alto investimento e não são herdáveis geneticamente pelos animais. Nesse contexto, para superar os

desafios provocados pelo estresse térmico, a seleção genética para melhorar a termotolerância é a estratégia mais viável e efetiva, pois representa a única ferramenta que pode melhorar de forma permanente o desempenho animal (NEGRI *et al.*, 2021).

Assim, algumas iniciativas de definição dos critérios de seleção estão em desenvolvimento no nosso país: o uso do índice de temperatura e umidade e a utilização da curva de temperatura vaginal ao longo do dia como indicadores de estresse térmico.

#### **4. Uso do índice de temperatura e umidade como indicador de estresse térmico**

Apesar da importância econômica da pecuária leiteira e do grande número de pesquisas na área, há uma lacuna em relação ao entendimento da interação genótipo-ambiente e os efeitos do estresse térmico para seleção animais da raça Girolando, visando o equilíbrio entre produção de leite e termotolerância.

Além das alterações na temperatura, as mudanças climáticas bruscas podem induzir alterações fisiológicas e comportamentais dos animais, principalmente aqueles criados em áreas tropicais (DE ANDRADE FERRAZZA *et al.*, 2017). Nessa acepção, Bohmanova *et al.* (2008) enfatizaram que as variáveis bioclimáticas desempenham papel expressivo na definição de diferentes ambientes produtivos e têm sido amplamente investigadas para uso na seleção da termotolerância.

Dentre os fatores que influenciam o estresse térmico, encontram-se a radiação solar, a umidade relativa do ar, a temperatura ambiente, a idade do animal, a capacidade homeotérmica, a raça, a capacidade produtiva, o estado nutricional e o sistema reprodutivo (CUNNINGHAM, 2008). Embora a temperatura ambiente seja frequentemente considerada como o fator climático mais importante, a umidade relativa do ar é outro agente importante para os animais que dependem de mecanismos de evaporação para dissipar o calor corporal (PINHEIRO *et al.*, 2015). Quanto maior a umidade relativa do ar associada às altas temperaturas, menos eficiente será a dissipação do calor, pois a umidade relativa elevada prejudica a liberação de calor por meio da respiração de várias espécies animais, principalmente pela dificuldade de troca térmica (SOUZA; BATISTA, 2012).

A combinação da temperatura e da umidade em um índice bioclimático, denominado índice de temperatura e umidade (ITU), representa os efeitos combinados da temperatura e umidade do ar (ARMSTRONG, 1994; HAHN *et al.*, 2003), e é geralmente utilizado para avaliar o grau de estresse térmico em vacas (RAVAGNOLO; MISZTAL, 2000), além de desempenhar papel expressivo na caracterização de diferentes ambientes produtivos (BOHMANOVA *et al.*, 2008).

Originalmente desenvolvido por Thom (1958) para detectar o estresse térmico em seres humanos, o ITU é um índice de valor único desenvolvido para avaliar o desconforto relacionado à alta temperatura ambiente combinada à alta umidade relativa. Posteriormente, a proposta inicial para calcular o ITU foi melhorada por Berry *et al.* (1964), tornando-se o indicador mundial de estresse térmico em bovinos. Depois, muitos pesquisadores apresentaram propostas para a equação, sendo que a metodologia sugerida pelo National Research Council (NRC, 1971) é a mais utilizada atualmente (BOHMANOVA *et al.*, 2007; BOHMANOVA *et al.*, 2008; DIKEMEN & HANSEN, 2009; BRÜGEMANN *et al.*, 2012; HAMMAMI *et al.*, 2013; NEGRI *et al.*, 2021).

A inter-relação entre a temperatura e a umidade do ar é importante para o bem-estar animal e para a rentabilidade dos sistemas de produção animal (HERBUTE; ANGRECKA, 2012). Nesse sentido, o ITU é utilizado para caracterizar e quantificar as zonas de conforto térmico adequadas às diferentes espécies animais, conjugando em uma única variável os elementos que caracterizam o ambiente térmico associado ao animal e as suas influências (PERISSINOTTO; MOURA, 2007; PIRES; CAMPOS, 2008). Assim, o animal dentro de uma faixa de ITU considerada adequada produzirá de acordo com o seu potencial genético, caso as outras condições limitantes também estejam em níveis adequados.

Em estudo avaliando bovinos da geração F2 (1/2 Holandês x 1/2 Gir), Ferreira *et al.* (2006) constataram que valores de ITU de 69 a 70 indicam condições não estressantes, enquanto que valores superiores a 83 indicam estresse severo. Azevedo *et al.* (2005) estimaram limites críticos superiores de ITU baseados na temperatura retal, sendo os limites de 80, 77 e 75 para animais do grupo genético 1/2, 3/4 e 7/8 Holandês x Zebu, respectivamente. Portanto, os níveis críticos de ITU poderiam fornecer subsídios aos criadores para adoção de

técnicas de manejo que minimizem os problemas decorrentes do estresse térmico em seus rebanhos (AZEVEDO *et al.*, 2005).

Todavia, o ITU não é rotineiramente considerado nas avaliações genéticas e pode comprometer a correta identificação e seleção dos animais geneticamente superiores para produção de leite. Além disso, sua inclusão nas avaliações genéticas nacionais da raça permitiriam realizar a predição dos valores genéticos para um novo fenótipo, a tolerância ao calor.

A grande vantagem dessa abordagem é não despende nenhum custo extra para a colheita dos fenótipos, uma vez que os controles parciais de produção de leite já são obtidos pelo serviço de controle leiteiro oficial da Associação Brasileira dos Criadores de Girolando e as informações bioclimáticas podem ser conseguidas por meio de estações meteorológicas públicas, localizadas próximas aos rebanhos avaliados.

## **5. Uso do índice de temperatura e umidade - resultados preliminares**

Os estudos preliminares foram realizados com base nos controles parciais de rebanhos distribuídos em todo o território brasileiro, coletados pelo Serviço de Controle Leiteiro Oficial da Associação Brasileira dos Criadores de Girolando, sendo disponibilizados em parceria com a Embrapa Gado de Leite. Os dados consistiram na produção de leite no dia do controle (TD) de vacas Girolando com diferentes composições raciais (7/8H:G, 3/4H:G, 5/8H:G, 1/2H:G, 3/8H:G, 1/4H:G) de primeira ordem de parto, coletados entre 2000 e 2020.

Para as análises foram consideradas somente vacas com idade entre 18 e 53 meses, considerando os dias em lactação (DIM) que variaram de 5 a 305, com TD dentro do intervalo de  $\pm 3$  desvios-padrão. Apenas animais saudáveis, com causas de encerramento de lactação consideradas normais e com pelo menos quatro controles durante a lactação foram mantidas para as análises. O tamanho estabelecido para cada grupo de contemporâneos (GC, rebanho-anomês de controle) foi de no mínimo três animais. Cada touro deveria ter no mínimo uma filha em pelo menos dois GC. Após as restrições, foram analisadas 653.956 informações de TD, de 69.431 vacas Girolando de diferentes composições raciais. O arquivo de pedigree incluiu 119.454 animais.

Os dados climáticas da temperatura do bulbo seco (TB, ° C) e umidade relativa média diária (UR, %) foram acessados no site do Instituto Nacional de

Meteorologia (INMET). Foram baixadas informações de 167 estações meteorológicas (representando 429 municípios). O índice de temperatura e umidade (ITU) foi calculado de acordo com a equação descrita pelo National Research Council (NRC, 1971).

As médias diárias do ITU foram testadas até três dias antes de cada registro de TD: ITU no registro TD (ITU0), um dia antes (ITU1), dois dias antes (ITU2), três dias antes (ITU3), média de dois dias antes de cada TD (ITUM01) e média de três dias antes de cada TD (ITUM012).

As análises de regressão aleatória foram conduzidas utilizando um modelo unicaracterística única que incluiu os efeitos aleatórios de animal, ambiente permanente e erro. O GC, frequência de ordenha, heterozigosidade, ITU e amplitude do ITU no dia do controle leiteiro, foram considerados como efeitos fixos do modelo. Como covariáveis, foram considerados os efeitos linear e quadrático da idade da vaca ao parto. A curva de lactação média (classe de idade e estação de parto) e os efeitos aleatórios genéticos aditivos de animais e de ambiente permanente foram ajustados por regressões em DIM, com polinômios de Legendre (Kirkpatrick *et al.*, 1994) de terceira ordem (grau quatro). Todos os componentes de variância e covariância foram estimados via REMLF90 (MISZTAL *et al.*, 2002).

A qualidade de ajuste foi avaliada considerando modelos não aninhados e penalidades, de acordo com o número de parâmetros a serem estimados: função log-verossimilhança (-2logL); Critério de informação de Akaike (AIC); e o critério de informação bayesiano de Schwarz (BIC).

O modelo que utilizou ITU0 apresentou o melhor ajuste de acordo com os critérios utilizados (-2logL, AIC e BIC). Ou seja, a informação bioclimática coletada no dia do controle leiteiro pode explicar melhor o comportamento produtivo dos animais Girolando de diferentes composições raciais. Biologicamente, deve-se considerar a composição genética dos animais, onde uma proporção é oriunda de *Bos primigenius indicus*, ficando evidente o indicativo de herança da adaptabilidade e de tolerância ao calor. O efeito residual do estresse térmico não apresentou impacto significativo, ou seja, a resposta ao estresse térmico foi imediata e não cumulativa, tornando o uso da raça Girolando uma alternativa para ambientes desafiadores ou mais susceptíveis às mudanças climáticas bruscas.

Acredita-se que exista diferenças nas respostas fisiológicas associadas à produção de leite das diferentes CCGs que originam a raça Girolando, que serão os objetivos das pesquisas subsequentes. Além disso, é preciso identificar e classificar os animais conforme sua tolerância ao estresse térmico. A identificação dentro de CCG e entre CCGs permitirão o direcionamento de uso de cada material genético, conforme as condições locais de cada região brasileira, permitindo ao criador a escolha e utilização dos animais conforme suas condições reais de manejo e de ambiente, visando estabelecer um sistema de criação economicamente viável e cada vez mais eficiente.

## **6. Curva de temperatura vaginal ao longo do dia como indicador de estresse térmico**

Além das medidas ambientais como indicadores de estresse térmico, também é possível realizar medidas individuais nos animais para detectar o estresse por calor. Estudos mostraram correlação alta e positiva entre a temperatura vaginal e a frequência respiratória, demonstrando que o aumento da temperatura corporal é um indicador de que o estresse térmico excedeu a capacidade de troca de calor da vaca leiteira (CVETKOVIC *et al.*, 2005).

Além de ser um provável indicador de estresse térmico, a temperatura vaginal tem implicações diretas nos resultados reprodutivos de bovinos leiteiros (POLSKY *et al.*, 2017). GWAZDAUSKAS *et al.* (1973) relataram pela primeira vez que aumento da ordem de 0,5 ° C da temperatura uterina resultou em diminuição da taxa de concepção de 6,9 a 12,8% em vacas leiteiras.

Outra grande vantagem de utilizar o monitoramento da temperatura vaginal ao longo do dia é que esse é um método não invasivo que possibilita o monitoramento contínuo da temperatura corporal, sem submeter os animais às condições estressantes de manejo e contenção (VICKERS *et al.*, 2010; BURFEIND *et al.* 2011; KAUFMAN *et al.*, 2018; CARVALHEIRA *et al.*, 2019). Segundo Kaufman *et al.* (2018), em comparação com a temperatura retal, a temperatura vaginal mostrou relações mais fortes com o ITU e pode ser usada para determinar o estresse térmico em bovinos leiteiros.

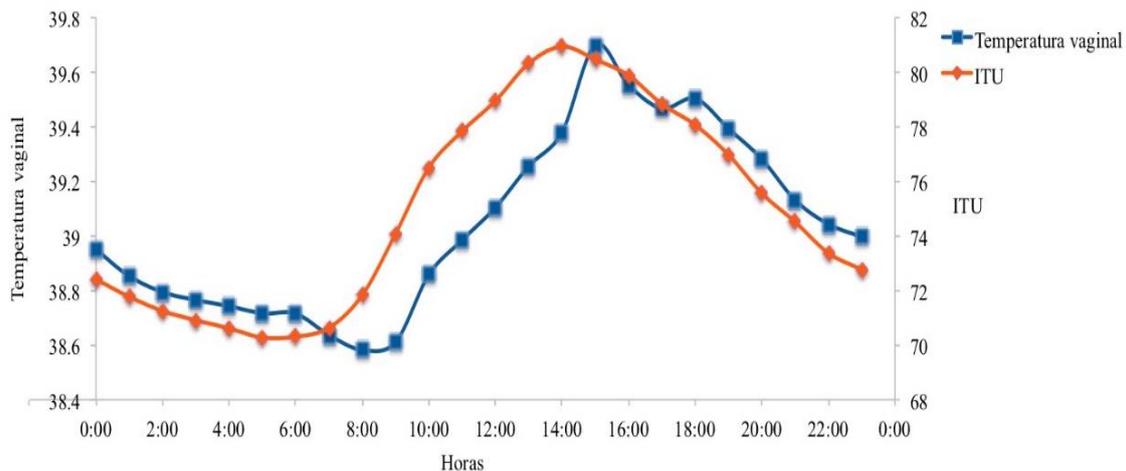
A temperatura vaginal é influenciada pela composição racial dos animais, indicando que animais com diferentes composições genéticas entram em estresse térmico em diferentes condições. Em trabalho conduzido por

Carvalho *et al.* (2021), os autores relataram que a temperatura vaginal de animais com maior grau de sangue Holandês tende a ser mais alta quando comparada a animais 1/2 H:G. Além disso os autores afirmaram que animais Girolando com composição genética maior do que 3/4 Holandês apresentam reduzida eficiência termorregulatória.

Em estudo conduzido no verão, outono e inverno, com novilhas da raça Holandês, Tian *et al.* (2021) relataram que o ideal seria a combinação das medidas de ITU e temperatura vaginal como indicadores de estresse por calor. De acordo com os autores o estresse por calor é causado quando o ITU é acima de 68 e a temperatura vaginal atinge 38,32 °C.

## 7. Variações ao longo do dia da temperatura vaginal

As variações de temperatura vaginal ao longo do dia em vacas Girolandas está alinhada as variações de ITU, porém com uma diferença aproximada de 1h (Figura 1).



**Figura 1.** Variação da temperatura vaginal de vacas Girolandas e do índice de temperatura e umidade (ITU) ao longo de 24h.

Em estudo conduzido na Embrapa Gado de Leite (CARVALHEIRA *et al.*, 2021) verificou-se que a temperatura vaginal diminui rapidamente entre 00:00h e 8:00h, caindo de 39°C a 38,6°C e atingindo o valor máximo de 39,6°C próximo às 15:00h, uma hora depois do maior valor observado de ITU (81,3). Vários fatores afetam a temperatura vaginal, como gestação e condição corporal. Vacas Girolando no primeiro e segundo trimestre de gestação apresentaram menor

( $P < 0,001$ ) temperatura vaginal do que vacas no terceiro trimestre de gestação, assim como vacas com condição corporal baixa (2,5 em uma escala de 1-5) apresentaram maior ( $P < 0,05$ ) temperatura ( $39,18 \pm 0,05^\circ\text{C}$ ) do que vacas com condição corporal de 3 ( $39,03 \pm 0,04^\circ\text{C}$ ); 3,5 ( $39,00 \pm 0,04^\circ\text{C}$ ) e 4 ( $38,92 \pm 0,08^\circ\text{C}$ ), embora os valores não sejam muitos distantes entre si. Interessantemente, neste estudo, não houve efeito da produção de leite diária na temperatura vaginal, possivelmente pela produção de leite da maioria dos animais Girolando (71%) neste estudo estar entre 10 e 30 litros diários.

Um fator de efeito na temperatura vaginal na raça Girolando é a composição racial do animal. Vacas 1/2 H:G têm menor temperatura vaginal do que vacas 3/4 H:G e 7/8 H:G; e tal diferença é melhor observada entre 12:00 e 20:00h, períodos onde o ITU é mais elevado. Nestes horários, as diferenças de temperatura vaginal podem variar de 0,5 a  $1^\circ\text{C}$  entre as vacas 1/2 H:G e as vacas 3/4 H:G e 7/8 H:G. Tais diferenças podem estar ligadas à melhor regulação da temperatura corporal da raça Gir de maneira que quanto maior for o grau de sangue Gir, mais eficiente a regulação da temperatura. De modo geral, observa-se que a temperatura vaginal tem aumento linear de  $0,05^\circ\text{C}$  ( $P < 0,001$ ) para cada aumento de ITU (CARVALHEIRA *et al.*, 2021).

Neste estudo, foi possível fazer associação genômica ampla com as variações diárias de temperatura vaginal (Camargo, comunicação pessoal). Usando modelo de regressão linear para temperatura vaginal com mais de 35.000 dados coletados em intervalos de 30 min durante 48h foi possível identificar variação genética nos cromossomos 15, 17 e 23 em janelas de 10 SNPs consecutivos. Por meio de análises de ontologia genica e enriquecimento observou-se quatro genes com funções biológicas em termogênese adaptativa, que deverão ser alvos de novos estudos para verificar sua associação e possíveis alelos que possam estar associados à uma melhor regulação da temperatura corpórea.

## 8. Conclusão

O estresse térmico é um problema real e de grande impacto na indústria de laticínios. As pesquisas realizadas até o momento demonstram a importância da investigação dos efeitos do estresse térmico na raça Girolando. A adoção do índice de temperatura e umidade e da curva da temperatura vaginal como

critérios de seleção permitirão constituir uma base sólida de informações e direcionar melhor os acasalamentos conforme o objetivo de cada criador.

Todas estas pesquisas e iniciativas constituem um pool de recursos que permitem e permitirão desvendar características intrínsecas da natureza dos animais Girolando, proporcionando melhor compreensão dos mecanismos de defesa corporal e auxiliando na tomada de decisões e direcionamento dos programas de melhoramento genético, conforme os objetivos de seleção, exigências do mercado e atendendo aos requisitos de bem-estar animal.

## 9. Referências

ARMSTRONG, D. V. Heat Stress Interaction with Shade and Cooling. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, p. 2044-2050, 1994.

AZEVEDO, M.; PIRES, M. F. A.; SATURNINO, H. M.; LANA, A. M. Q.; SAMPAIO, I. B. M.; MONTEIRO, J. B. N.; MORATO, L. E. Estimativa de níveis críticos superiores do índice de temperatura e umidade para vacas leiteiras 1/2, 3/4 e 7/8 Holandês-Zebu em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 6, p. 2000-2008, 2005.

BERRY, I. L.; SHANKLIN, M. D.; JOHNSON, H. D. Dairy shelter design based on milk production decline as affected by temperature and humidity. **Transactions of the American Society of Agricultural Engineers**, St. Joseph, v. 7, n. 3, p. 329-331, 1964.

BERTONCELLI, P.; MARTIN, T. N.; ZIECH, M. F.; PARIS, W.; CELLA, P. S. Conforto térmico alterando a produção leiteira. **Enciclopédia Biofesra**, Goiânia, v. 9, n. 17, p. 762-777, 2013.

BOHMANOVA, J.; MISZTAL, I.; COLE, J. B. Temperature-humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 4, p. 1947-1956, 2007.

BOHMANOVA, J.; Misztal, I.; Tsuruta, S.; Norman, H. D.; Lawlor, T. J. Short communication: Genotype by environment interaction due to heat stress. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, p. 840-846, 2008.

BOURAOUI, R.; Lahmar, M.; Majdoub, A.; Djemali, M.; Belyea, R. The relationship of temperature-humidity index with milk production of dairy cows in a

Mediterranean climate. **Animal Research**, Cambridge, v. 51, n. 1, p. 479-491, 2002.

BRÜGEMANN, K. *et al.* Defining and evaluating heat stress thresholds in different dairy cow production systems. **Archives für Tierzucht**, Berlin, v. 55, n. 1, p. 13-24, 2012.

CARDOSO, C. C.; PERIPOLLI, V.; AMADOR, S. A.; BRANDÃO, E. G.; ESTEVES, G. I. F.; SOUSA, C. M. Z.; FRANÇA, M. F. M. S.; GONÇALVES, F. G.; BARBOSA, F. A.; MONTALVÃO, T. C.; MARTINS, C. F.; FONSECA NETO, A. M.; McMANUS, C. Physiological and thermographic response to heat stress in zebu cattle. **Livestock Science**, Netherlands, v. 182, p. 82-93, 2015.

CVETKOVIC, B.; SMITH, J. F.; HARNER, J. P.; BROUK, M. J. Using vaginal temperature to evaluate heat stress in dairy cattle. **Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports**, Kansas, v. 1, n. 2, p. 278, 2005.

BURFEIND, O.; SUTHAR, V. S.; VOIGTSBERGER, R.; BONK, S.; HEUWIESER, W. Validity of prepartum changes in vaginal and rectal temperature to predict calving in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.94, p. 5053–5061, 2011.

CARVALHEIRA, L. R. **Desenvolvimento in vitro de embriões bovinos expostos ao choque térmico e ao fator estimulador de colônia**. Tese de doutorado. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 105 p, 2019.

CARVALHEIRA, L. R.; WENCESLAU, R. R.; RIBEIRO, L. S.; DE CARVALHO, B. C.; BORGES, A. M.; CAMARGO, L. S. A. Daily vaginal temperature in Girolando cows from three different genetic composition under natural heat stress. **Translational Animal Science**, Nova Delhi, v. 5, n. 3, p. 138, 2021.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Análise mensal: Leite e Derivados**. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 5 p, Março/Abril 2021.

COSTA, A. N. L.; FEITOSA, J. V.; MONTEZUMA JR, P. A.; SOUZA, P. T.; ARAUJO, A. A. Rectal temperatures, respiratory rates, production, and reproduction performances of crossbred Girolando cows under heat stress in

northeastern Brazil. **International Journal of Biometeorology**, Germany, v. 59, n. 11, p. 1647-1653, 2015.

CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 4th ed. G. Koogan, ed., Rio de Janeiro, 2008.

Da CRUZ, L. V.; ANGRIMANI, D. de S. R.; RUI, B. R.; Da SILVA, M. A. Efeitos do estresse térmico na produção leiteira: revisão de literatura. **Revista científica eletrônica em Medicina Veterinária**, Garça, 2011.

De ANDRADE FERRAZZA, R.; GARCIA, H. D. M.; ARISTIZÁBEL, V. H. V.; NOGUEIRA, C. de S.; VERÍSSIMO, C. J.; SARTORI, J. R.; SARTORI, R.; FERREIRA, J. C. P. Thermoregulatory responses of Holstein cows exposed to experimentally induced heat stress. **Journal of Thermal Biology**, United Kingdom, v. 66, p. 68-80, 2017.

DIKMEN, S.; HANSEN, P. J. Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 1, p. 109-116, 2009.

FERRAZ, J. B. S.; FELÍCIO, P. E. Production systems – An example from Brazil. **Meat Science**, Netherlands, v. 84, n. 2, p. 238-243, 2010.

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

FREITAS, A. F.; COSTA, C. N.; BIZINOTTO, L. C.; MENEZES, C. R. A.; PAIVA, L. C.; BILHARINHO, E. R. **Programa de Melhoramento Genético da Raça Girolando. Teste de progênie**: Sumário de Touros 2007. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 120) 20 p, 2007.

FREITAS, A. F.; COSTA, C. N.; MENEZES, C. R. A.; PAIVA, L. C.; CEMBRANELLI, M. A. R.; ARBEX, W. A.; SANTOS, K. C. L.; SANTOS, D. C. A. **Programa de Melhoramento Genético da Raça Girolando. Teste de progênie**: Sumário de Touros 2009. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 133) 45 p, 2009.

GANTNER, V.; BOBIC, T.; GANTNER, R.; GREGI, M.; KUTEROVAC, K.; NOVAKOVIC, J.; POTOČNIK, K. Differences in response to heat stress due to production level and breed of dairy cows. **International Journal of Biometeorology**, Germany, v. 61, p. 1675-1685, 2017.

GERBUT, P.; ANGRECKA, S. Forming of temperature-humidity index (THI) and milk production of cows in the free-stall barn during the period of summer heat. **Animal Science Papers and Reports**, Jastrzębiec, v. 30, n. 4, p. 363-372, 2012.

GWAZDAUSKAS, F. C.; THATCHER, W. W.; WILCOX, C. J. Physiological, environmental, and hormonal factors at insemination which may affect conception. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 56, n. 1, p. 873–877, 1973.

HAHN, G. L.; MADER, T. L.; EIGENBERG, R. A. Perspective on development of thermal indices for animal studies and management. **European Association of Animal Production Proceedings**, Washington, v. 7, p. 31–44, 2003.

HAMMAMI, H. *et al.* Evaluation of heat stress effects on production traits and somatic cell score of Holsteins in a temperate environment. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 96, n. 3, p. 1844-1855, 2013.

HANSEN, P. J. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. **Animal Reproduction Science**, v. 82, n. 83, p. 349-360, 2004.

HOULAHAN, K.; SCHENKEL, F. S.; HAILEMARIAM, D.; LASSEN, J.; KARGO, M.; COLE, J. B.; CONNOR, E. E.; WEGMANN, S.; JUNIOR, O.; MIGLIOR, F.; FLEMING, A.; CHUD, T. C. S.; BAES, C. F. Effects of incorporating dry matter intake and residual feed intake into a selection index for dairy cattle using deterministic modeling. **Animals**, Switzerland, v. 11, n. 4, o. 1157, 2021.

KAUFMAN, J. D.; SAXTON, A. M.; RÍUS, A. G. Short communication: Relationships among temperature-humidity index with rectal, udder surface, and vaginal temperatures in lactating dairy cows experiencing heat stress. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 101, p. 1–6, 2018.

KIRKPATRICK, M.; HILL, W. G.; THOMPSON, R. Estimating the covariance structure of traits during growth and ageing, illustrated with lactation in dairy cattle. **Genetics Research**, Cambridge, v. 64, p. 57–69, 1994.

KOLMODIN, R.; Strandberg, E.; Jensen, J.; Jorjani, H. Genotype by environment interaction in Nordic dairy cattle studied using reaction norms. *Acta Agriculturae Scandinavica - Section A: Animal Science*, London, v. 52, n. 1, p. 11-24, 2002.

LIMA, I. A.; AZEVEDO, M.; BORGES, C. R. A.; FERREIRA, M. A.; GUIM, A.; ALMEIDA, G. L. P. Thermoregulation of Girolando cows during summertime, in Pernambuco State, Brazil. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 35, n. 2, p. 193-199, 2013.

MADER, T. L.; DAVIS, M. S.; BROWN-BRANDL, T. Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 84, n. 3, p. 712-719, 2006.

MISZTAL, I.; TSURUTA, S.; STRABEL, T.; AUVRAY, B.; DRUET, T.; LEE, D. H. BLUPF90 and related programs (BGF90). In: 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, **Proceedings...** Communication N° 28-07. Montpellier. 2002.

MOURA, G. A. B.; COSTA, C. C. M.; FONSECA, V. F. C.; WIJFFELS, G.; CASTRO, P. A.; CHIQUITELLI NETO, M.; MAIA, A. S. C. Are crossbred cattle (F1, *Bos indicus* x *Bos taurus*) thermally different to the purebred *Bos indicus* cattle under moderate conditions? *Livestock Science*, Netherlands, v. 246, p. 104457, 2021.

NARDONE, A.; RONCHI, B.; LACETERA, N.; RANIERI, M. S.; BERNABUCCI, U. Effects of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems. *Livestock Science*, Amsterdam, v. 130, p. 57-69, 2010.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. A guide to environmental research on animals. Washington, DC: **National Academy Press**, 1971.

NEGRI, R.; AGUILAR, I.; FELTES, G. L.; COBUCCI, J. A. Selection for test-day milk yield and thermotolerance in Brazilian Holstein cattle. *Animals*, Switzerland, v. 11, p. 128, 2021.

OTTO, P. I.; GUIMARÃES, S. E. F.; VERARDO, L. L.; AZEVEDO, A. L. S.; VANDENPLAS, J.; SEVILLANO, C. A.; MARQUES, D. B. D.; PIRES, M. D. F. A.; FREITAS, C.; VERNEQUE, R. S.; MARTINS, M. F.; PANETTO, J. C. C.; CARVALHO, W. A.; GOBO, D. O. R., DA SILVA, M. V. G. B.; MACHADO, M. A.

Genome-wide association studies for heat stress response in *Bos taurus* × *Bos indicus* crossbred cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 102, p. 8148-8158, 2019.

PERISSINOTTO, M.; MOURA, D. J. Determinação do conforto térmico de vacas leiteiras utilizando a mineração de dados. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, Campinas, v. 1, n. 2, p. 117-126, 2007.

PINHEIRO, C.; SARAIVA, E. P.; APARECIDA, C.; SARAIVA, S.; De FRANÇA, V.; FONSECA, C.; ELIVANIA, M.; ALMEIDA, V.; GONÇALVES, G.; LEAL, M.; MENEZES, C.; JOSÉ, P.; NETO, R. Características anatomofisiológicas de adaptação de bovinos leiteiros ao ambiente tropical. **Revista Agropecuária Técnica**, Areia, v. 36, p. 280-293, 2015.

PIRES, M. F. A.; CAMPOS, A. T. Conforto Animal para maior produção de leite. Viçosa: **CPT – Centro de Produções Técnicas**, 2008. p. 252.

POLSKY, L.; MAUREIRA, A. M. L.; GRADO FILHO, E.; SORIANO, S.; SICA, A. F.; VASCONSELOS, J. L. M.; CERRI, R. L. A. Invited review: Effects of heat stress on dairy cattle welfare. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 100, p. 8645-8657, 2017.

POLSKY, L.; KEYSERLINGK, M. A. G. Association between ambient temperature and humidity, vaginal temperature, and automatic activity monitoring on induced estrus in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 100, p. 8590-8601, 2017.

RAVAGNOLO, O.; MISZTAL, I. Genetic component of heat stress in dairy cattle, parameter estimation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, p. 2126-2130, 2000.

RENAUDEAU, D.; COLLIN, A.; YAHAV, A.; De BASILIO, V.; GOURDINE, J. L.; COLLIER, R. J. Adaptation to hot climate and strategies to alleviate heat stress in livestock production. **Animal**, Cambridge, v. 6, p. 707-728, 2012.

ROCHA, D. T.; CARVALHO, G. R.; RESENDE, J. C. **Cadeia produtiva do leite no Brasil: produção primária**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, (Embrapa Gado de Leite. Circular Técnica, 123) 16 p, 2020.

SILVA, M. V. G. B.; FREITAS, A. F.; PAIVA, L. C.; MENEZES, C. R. A.; COSTA, C. N.; SILVA, L. C. M.; GUIMARÃES, M. F. M.; CAETANO, A. R.; PAIVA, S. R.; ARBEX, W. A.; JUNQUEIRA, A. N.; MOURA, L. F. M.; AZEVEDO, A. A. **Programa de Melhoramento Genético da Raça Girolando. Sumário de Touros 2010.** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 139) 58 p, 2010.

SILVA, M. V. G. B.; PAIVA, L. C.; CEMBRANELLI, M. A. R.; MARTINS, M. F.; FREITAS, A. F.; COSTA, C. N.; RODRIGUES, W. B. R.; ARBEX, W. A.; CAETANO, A. R.; SANTOS, G. G.; BRUNELI, F. A. T.; PANETTO, J. C. C.; VIANA, B. A.; FERREIRA JÚNIOR, E. **Programa de Melhoramento Genético da Raça Girolando. Sumário de Touros 2011.** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 139) 45 p, 2011.

SILVA, M. V. G. B.; PAIVA, L. C.; CEMBRANELLI, M. A. R.; MARTINS, M. F.; FREITAS, A. F.; RODRIGUES, W. B. R.; BRUNELI, F. A. T.; ARBEX, W. A.; CANAZA-CAYO, A. W.; PANETTO, J. C. C.; COSTA, C. N.; SANTOS, G. G.; CARVALHO, B. C.; FERREIRA, M. B. D. F. **Programa de Melhoramento Genético da Raça Girolando. Sumário de Touros. Resultados do teste de progênie** – Julho 2012. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 154) 52 p, 2012.

SILVA, M. V. G. B.; FREITAS, A. F.; MARTINS, M. F.; PAIVA, P. C.; COSTA, C. N.; MENEZES, C. R. A.; PAIVA, L. C.; SILVA, M. V. G. B.; GUIMARÃES, M. F. M.; CAETANO, A. R.; PAIVA, S. R.; JUNQUEIRA, A. N.; MOURA, L. F. M. **Programa de Melhoramento Genético da Raça Girolando. Avaliação genética das vacas.** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 166) 44 p, 2013.

SILVA, M. V. G. B.; MARTINS, M. F.; PAIVA L. C.; CEMBRANELLI, M. A. R.; PAIVA, L. C.; FREITAS, A. F.; PANETTO, J. C.; ALVES, B. R. C.; COSTA, M. J. R. P.; SILVA, L. C. M.; SILVA, T. B. R.; CARVALHAL, M. V. L.; GONÇALVES, G. S.; CAMPOS, M. M.; CARVALHO, B. C.; SANT'ANNA, A. C.; MACHADO, M. A.; FAZA, D. R. L. R. **Programa de Melhoramento Genético da Raça Girolando. Sumário de Touros. Resultados do teste de progênie. 4ª prova de pré-seleção de Touros** – Julho 2016, Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 179) 72 p, 2016.

SILVA, M. V. G. B.; MARTINS, M. F.; GONÇALVES, G. S.; PAIVA L. C.; CEMBRANELLI, M. A. R.; PANETTO, J. C.; MACHADO, M. A.; FAZA, D. R. L. R.; FERREIRA JÚNIOR, E.; CEMBRANELLI, M. A. R. **Programa de Melhoramento Genético da Raça Girolando. Sumário de Touros. Resultados do teste de progênie** – Junho 2019, Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 239) 68 p, 2019.

SILVA, M. V. G. B.; MARTINS, M. F.; GONÇALVES, G. S.; PANETTO, J. C.; PAIVA L. C.; MACHADO, M. A.; FAZA, D. R. L. R.; FERREIRA JÚNIOR, E.; OTTO, P. I.; GLATZL JÚNIOR, L. A. **Programa de Melhoramento Genético da Raça Girolando. Sumário de Touros. Resultados do teste de progênie** (Avaliação Genética / Genômica) – Junho 2020, Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 248) 87 p, 2020.

SILVA, M. V. G. B.; GONÇALVES, G. S.; PANETTO, J. C.; PAIVA L. C.; FAZA, D. R. L. R.; FERREIRA JÚNIOR, E.; OTTO, P. I.; GLATZL JÚNIOR, L. A.; DALTRO, D. S.; NEGRI, R.; KLUSKA, S.; KERN, E. L.; MARTINS, M. F.; COBUCI, J. A. **Programa de Melhoramento Genético da Raça Girolando. Sumário de Touros. Resultados do teste de progênie** (Avaliação Genética / Genômica) – Julho 2021, Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 255) 79 p, 2021.

SILVA, T. P. D.; SOUSA JÚNIOR, S. C. Produção de leite de vacas submetidas a diferentes períodos de exposição à radiação solar no sul do Piauí. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 6, n. 21, p. 320-325, 2013.

SOUZA, B. B.; BATISTA, N. L. Os efeitos do estresse térmico sobre a fisiologia animal. **Agropecuária científica no semiárido**, Campina Grande, v. 8, n. 3, p. 6-10, 2012.

THOM, E. C. Cooling degree: day air conditioning, heating, and ventilating. **Transaction of the American Society of Heating**, New York, v. 55, n. 7, p. 65-72, 1958.

TAO, S.; RIVAS, R. M. O.; MARINS, T. N.; CHEN, Y.; GAO, J.; BERNARD, J. K. Impact of heat stress on lactational performance of dairy cows, **Theriogenology**, Washington, v. 150, p. 437-444, 2020.

TIAN, H.; LIU, J.; CHEN, X.; LI, S.; LI, X.; MENGAL, K.; LU, Y.; WANG, D. Effects of ambient temperature and humidity on body temperature and activity of heifers, and a novel idea of heat stress monitoring. **Animal Production Science**, Camberra, p. 20156, 2021

VICKERS, L. A.; BURFEIND, O.; KEYSERLINGK, M. A. G. V.; VEIRA, D. M.; WEARY, D. M.; HEUWIESER, W. **Technical note**: Comparison of rectal and vaginal

temperatures in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, p. 5246–5251, 2010.

WERNCKE, D., GABBI, A. M., ABREU, A. S., FELIPUS, N. C., MACHADO, N. L., CARDOSO, L. L., SCHMID, F. A., ALESSIO, D. R. M., FISCHER, V. & NETO, A. T. r. 2016. Qualidade do leite e perfil das propriedades leiteiras no sul de Santa Catarina: abordagem multivariada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 68, 506- 516.

WEST, J. W. *et al.* Effects of Hot, Humid Weather on Milk Temperature, Dry Matter Intake, and Milk Yield of Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 1, p. 232-242, 2003.

WILLERS, C. D., FERRAZ, S. P., CARVALHO, L. S. & RODRIGUES, L. B. 2014. Determination of indirect water consumption and suggestions for cleaner production initiatives for the milk producing sector in a Brazilian middle-sized dairy farming. **Journal of Cleaner Production**, v. 72, p. 146-152, 2014.

## **Autores**

Renata Negri<sup>1</sup>, Darlene Daltro<sup>1</sup>, Sabrina Kluska<sup>1</sup>, Pamela Itajara Otto<sup>2</sup>, Luiz Sergio De Almeida Camargo<sup>3</sup>, Marcos Vinícius G. Barbosa da Silva<sup>3</sup>

1. Associação Brasileira dos Criadores de Girolando.
2. Professora Adjunta da Universidade Federal de Santa Maria.
3. Pesquisador da Embrapa Gado de leite.

---

## Forma e função de uma vaca leiteira

Fabio Nogueira Fogaça

Quando se fala em aprimorar as características morfológicas de vacas leiteiras, é comum pensar logo em animais de “tipo exposição”. Alguns produtores ficam resistentes e afirmam não ter interesse nestes animais. Mas, ao selecionar características morfológicas funcionais de vacas leiteiras, estamos pensando em produtividade e alongar a vida útil. O melhoramento genético de alguns atributos importantes em um animal leiteiro traz um impacto econômico positivo ao produtor.

O importante não é a raça, e sim a maneira como é utilizada (manejo, alimentação, etc.).

### 1. Evolução dos bovinos leiteiros

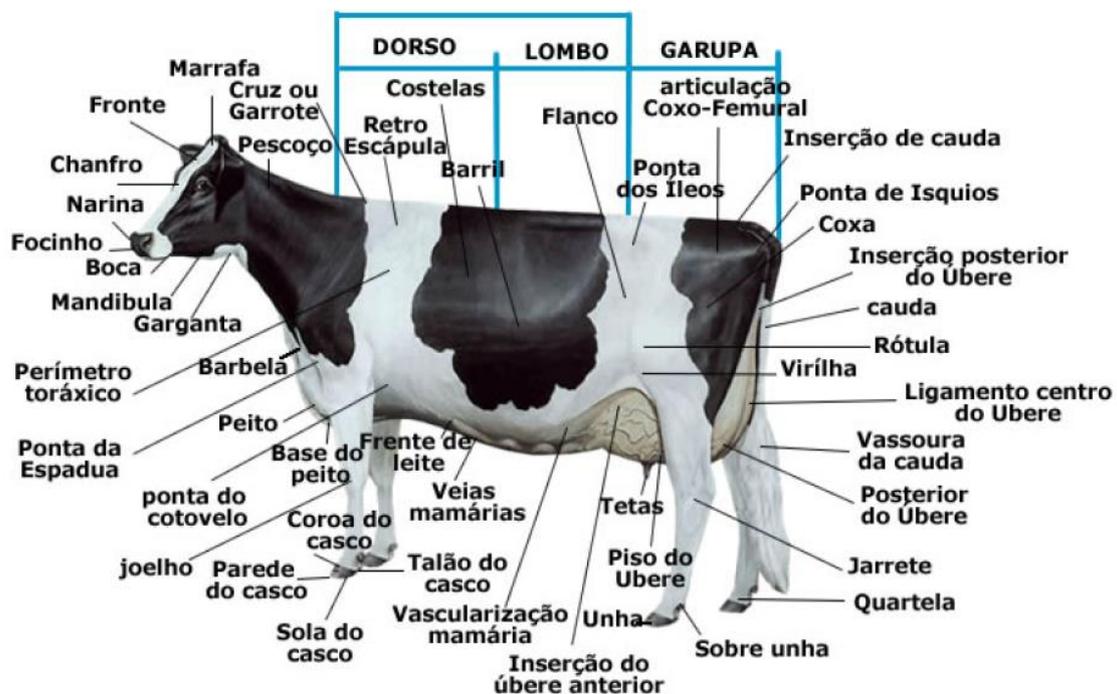
A evolução morfológica evidente das vacas leiteiras trouxe-lhes mais longa vida útil e produtividade. Comparando os animais de diferentes épocas, a impressão à primeira vista é de que são de raças diferentes, tamanha a evolução verificada. Vacas produtivas e longevas possibilitam maior rentabilidade ao produtor, algo essencial quando se trabalha com um produto que se comporta como *comodities*.

Isso se deve à demanda de toda a cadeia produtiva do leite. Produtores, indústria e comércio buscaram melhorar aquelas características que tornariam os animais economicamente melhores. Porém, o aumento da produtividade trouxe maior propensão a problemas de saúde nos animais. Está claro que apenas a conformação geral de uma vaca não é suficiente para trazer mais longa vida útil e produtividade. Uma vaca não conseguirá expressar todo o seu potencial genético produtivo caso, por exemplo, ela não reproduza todo o ano, tenha muita mastite, problemas de casco. Assim, não adianta ter um programa

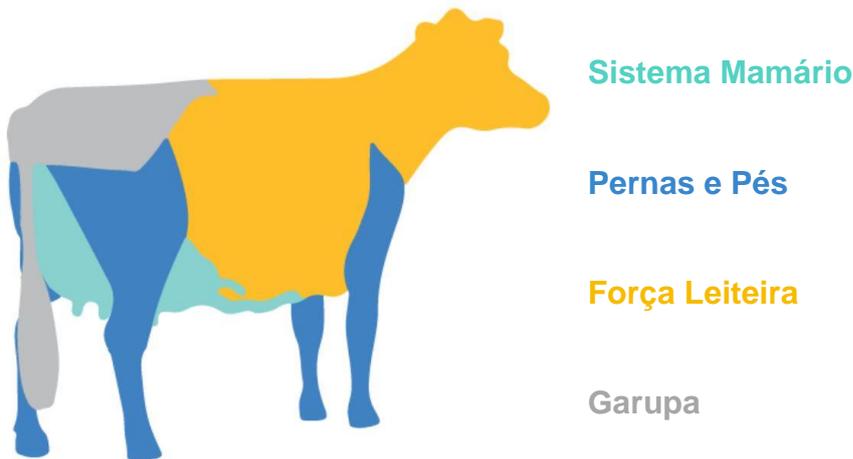
de melhoramento genético sem as corretas práticas de manejo e um ambiente adequado.

## 2. Características lineares e morfológicas

Para podermos aprender e/ou avaliar as características de conformação é de suma importância sabermos as nomenclaturas usadas para identificar cada parte do corpo ou úbere de um exemplar de raças leiteiras. O exemplo abaixo trás essas informações, as quais são validas para qualquer das raças leiteiras atualmente conhecidas.



Na avaliação vamos dividir em quatro partes mais essenciais, descrevendo as qualidades buscadas e em seguida daremos mais detalhes de cada uma, são elas:



### SISTEMA MAMÁRIO

- ✓ Macio ao toque, alto, largo e fortemente aderido, com bom comprimento e posicionamento do teto;
- ✓ Úberes saudáveis que sejam resistentes ao despregamento;
- ✓ Fácil de ordenhar com descida e retirada eficazes do leite;
- ✓ Úberes com capacidade suficiente para armazenar grandes volumes de leite;
- ✓ Aderência e sustentação do úbere para mante-lo livre de contaminação.

### PERNAS & PÉS

- ✓ Pernas bem posicionadas, curvatura intermediária e um casco íngreme com talão profundo;
- ✓ Maior resistência a claudicação e doenças nos pés;
- ✓ Locomoção em linha reta com ampla liberdade de movimento;
- ✓ Mobilidade para chegar ao cocho, sala de ordenha e favorecer a detecção de cio.

### FORÇA LEITEIRA

- ✓ Costelas bem arqueadas e abertas com adequada amplitude;
- ✓ Capacidade adequada para consumo de uma dieta rica em forragem;
- ✓ Manter condição corporal adequada com alta produção de leite;

- ✓ Vaca saudável com espaço suficiente para órgãos vitais funcionarem.

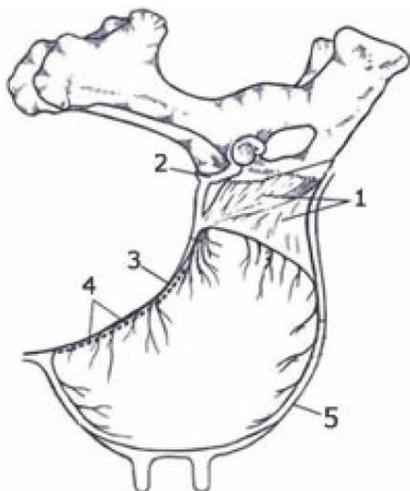
### GARUPA

- ✓ Devidamente inclinada, larga e fortemente ligada as vértebras;
- ✓ Impacta no posicionamento do trato reprodutivo, que deve ser mantido alto, dentro da cavidade abdominal;
- ✓ Beneficiar eficiência reprodutiva;
- ✓ Melhor facilidade de parto e saudável recuperação no pós-parto.

### 3. SISTEMA MAMÁRIO

A primeira característica de destaque em uma vaca leiteira é sua produção. Depois disto, se deseja que ela tenha ótimas condições de saúde para que permaneça em lactação por vários anos, isto é, a chamada vida útil. Uma das partes que mais influencia esta vida útil é a boa qualidade geral do úbere.

O sistema mamário é formado por diversas estruturas que não podem ser vistas externamente e que também são muito importantes na sustentação, senão vejamos:



1. Ligamento suspensório lateral
2. Ligamento suspensório médio
3. Tecido conectivo
4. Tendão subpélvico
5. Pele

**3.1. Inserção do Úbere Anterior:** é a força da aderência do úbere ao corpo. Esta é uma das características que apresenta maior correlação com vida útil. Com uma inserção firme, a vaca se manterá em produção por vários anos. Muito

importante ressaltar que não se mede a forma ou comprimento do úbere ao avaliar a inserção de úbere anterior. É comum confundir um úbere curto como sendo fraco. Ele pode ser curto e ser bem aderido ao corpo da vaca. Avalia-se apenas a força de adesão dos ligamentos laterais à parede abdominal. Abaixo destacamos o ideal.



**3.2. Altura do Úbere Posterior:** o úbere de uma vaca leiteira deve ser o mais alto possível. Avalia-se a distância entre a base da vulva e o início do tecido secretor mamário do úbere posterior. Apenas a altura do ligamento é medida, não a forma ou largura. O ideal é o úbere cujo topo do úbere posterior, esteja 19 cm abaixo da vulva. Nos quartos posteriores, ocorrem 60% da produção do leite, pois há maior área de glândula mamária. Assim, teoricamente quanto mais alto e largo o úbere, maior o número de alvéolos (células secretoras de leite).

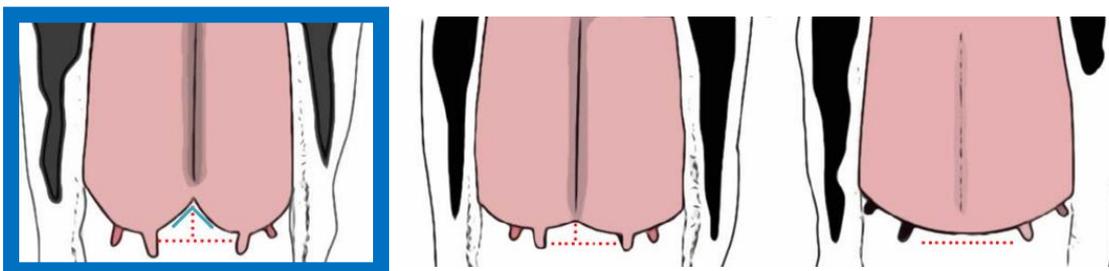


**3.3. Largura de Úbere Posterior:** é a medida da largura do úbere posterior no ponto em que os ligamentos laterais se aderem ao corpo. É evidente que quanto mais largo for o úbere posterior, melhor, pois tende-se a ter maior área de

armazenamento do leite produzido. O ponto onde se mede a largura do úbere posterior é o mesmo local de onde se parte para medir a altura. Observamos que na lateral do úbere, na parte mais alta deste, existem pequenas pregas de pele dos dois lados. Este é o ponto de partida para medir tanto a altura quanto a largura.

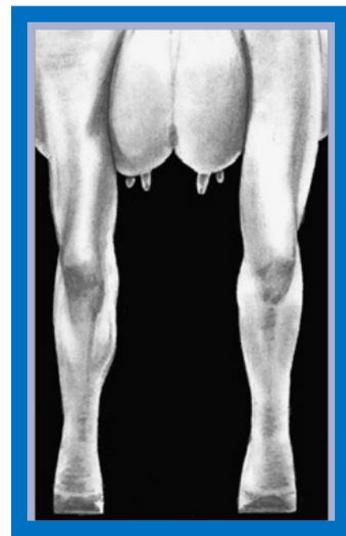
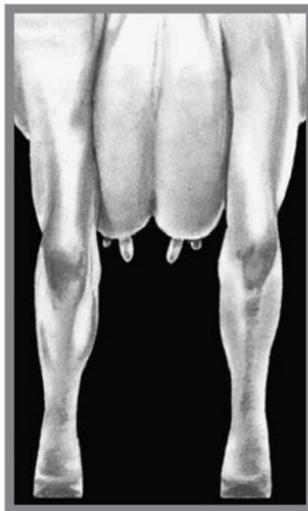


**3.4. Ligamento Central:** é o principal suporte do sistema mamário, auxilia o úbere a manter-se acima do jarrete (agarrado), separa o úbere anterior e posterior em duas metades (direita e esquerda). Este ligamento corta o úbere ao meio, mantendo-o elevado e, conseqüentemente, mais longe do chão e menos exposto a sujidades do ambiente. O ligamento central também influencia o posicionamento dos tetos. Tetos bem colocados facilitam a ordenha. O pronunciamento do ligamento central na base do úbere é tão importante quanto estar definido em toda a região posterior do úbere. É na base onde há uma maior pressão exercida pelo volume de leite armazenado no úbere. Veja nas imagens abaixo como o ligamento central pode influenciar no posicionamento dos tetos:



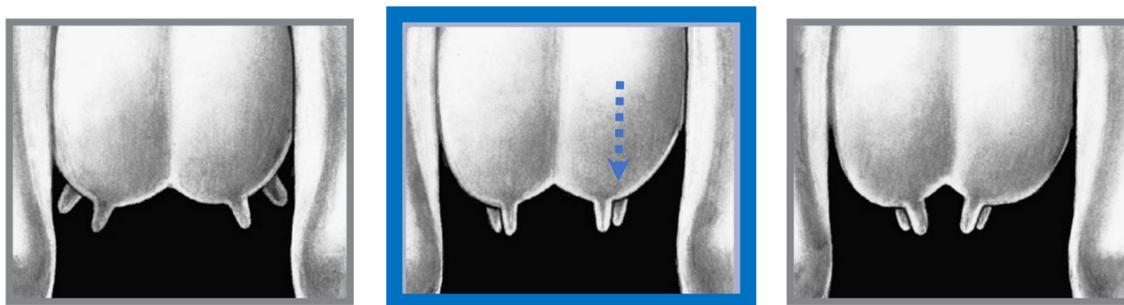
No ligamento extremamente forte há uma divisão muito evidenciada dos quartos mamários traseiros. Observe o “V” invertido que se forma na base do úbere. Em animais com esta classificação de ligamento central esse “V” é muito fechado, e quanto mais fechado, melhor. Pode-se observar que os tetos posteriores se voltam mais para dentro, o que pode dificultar um pouco a ordenha. Em animais com o ligamento intermediário, o “V” na base do úbere é muito sutil e aberto. Os tetos posteriores estão mais centralizados. No ligamento central extremamente fraco o “V” na base do úbere é inexistente. Observe que os tetos ficam mais separados, principalmente os anteriores.

**3.5. Profundidade do Úbere:** indica a relação do piso do úbere (base dos quartos mamários, sem contar os tetos) em relação ao jarrete. Primíparas tendem a ter úbere mais raso (piso 9 cm ou mais, acima do nível jarrete) e com o aumento da ordem de parição, a tendência é que o úbere mostre mais profundidade. As medidas de profundidade de úbere tomadas como parâmetros são feitas em vacas de primeira cria, pois elas sofrem menos influência do meio, do que vacas de mais crias, expressando melhor seus méritos genéticos. Portanto, é a medida entre o piso do úbere e o jarrete. Sendo o ideal, sempre acima do jarrete.



**3.6. Colocação dos Tetos Anteriores:** é o grau de implantação dos tetos em relação ao quarto e está relacionado à facilidade de extração do leite, pois forma-

se um canal retilíneo, em que o leite flui com facilidade. O que se busca são tetos colocados no centro do quarto, os quais facilitam a ordenha. Em tetos posicionados mais lateralmente ou internamente, ocorrerá um estrangulamento do canal do teto no momento da ordenha, havendo menor fluxo de leite, maior tempo de ordenha e maior tendência de acúmulo de leite residual, que por sua vez aumenta o risco de mastite. Tetos laterais também podem provocar a entrada de ar nos conjuntos de ordenha pelo mal encaixe da unidade de ordenha. A análise deve ser feita, visualizando por trás, sendo os mesmos estarem posicionados no centro do quarto mamário.



**3.7. Colocação dos Tetos Posteriores:** avaliado em dois itens: tetos posteriores e anteriores. De qualquer forma, eles devem ser uniformes e de forma cilíndrica, ser bem espaçados tanto na vista lateral como na vista posterior, ter baixa susceptibilidade a traumatismos.



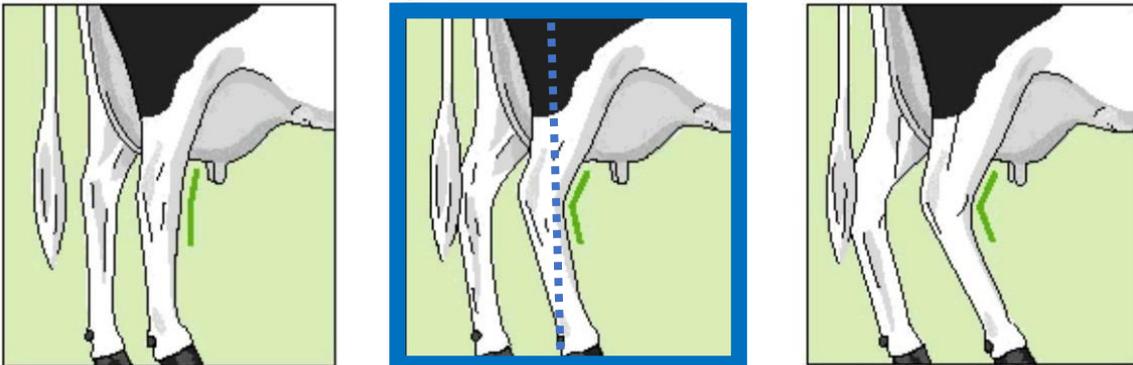
#### 4. PERNAS e PÉS

Pernas e pés definitivamente contribuem para vida útil e lucratividade. Depois de baixa produção, mastite e problemas reprodutivos, pernas e pés são a razão mais comum para descarte. Vacas com mobilidade prejudicada não são

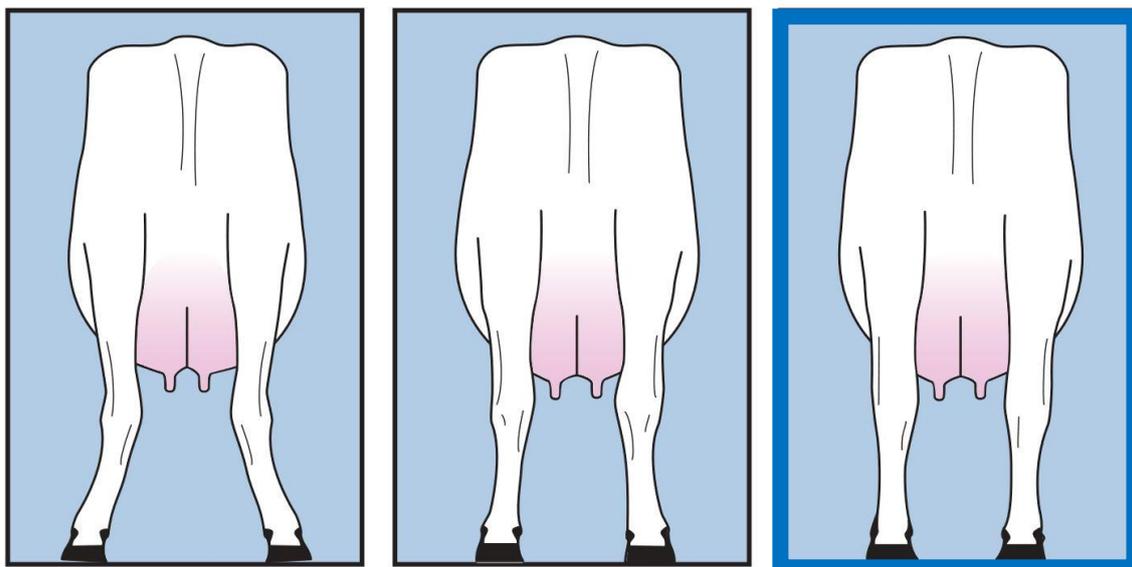
competitivas no cocho, como também não conseguem caminhar no pasto buscando o seu alimento.

Característica diretamente relacionada à performance produtiva e reprodutiva. A função do aparelho locomotor para as vacas leiteiras é proporcionar a sustentação e locomoção de forma confortável, facilidade na mobilidade (ossos fortes e bem definidos). Quanto mais confortável, maior desempenho produtivo e reprodutivo. Ao verificar aprumos, observam-se apenas membros posteriores.

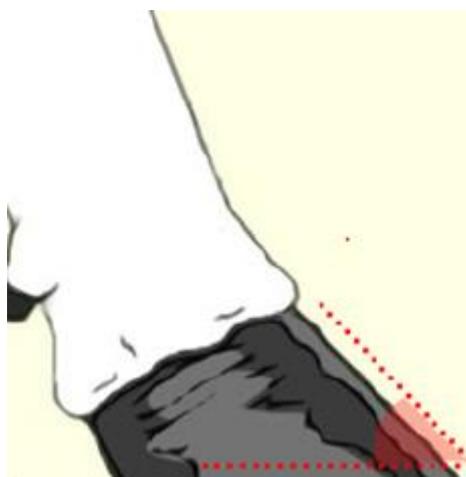
**4.1. Pernas vista lateral:** mede a curvatura da perna na região do jarrete. Para observar, trace uma linha partindo da articulação coxofemoral até o chão. Na perna ideal, ligeiramente curva, a linha passa pelo centro do jarrete e termina sobre a unha. Nas pernas curvas, a linha passa mais para trás do jarrete. Já em uma perna reta, a linha fica deslocada mais à frente do jarrete.



**4.2. Pernas vista posterior:** observa-se o direcionamento dos cascos. Esta característica mede o grau de paralelismo das pernas, vista por trás. É a forma mais atual de avaliação. O ideal é que sejam abertas e paralelas.



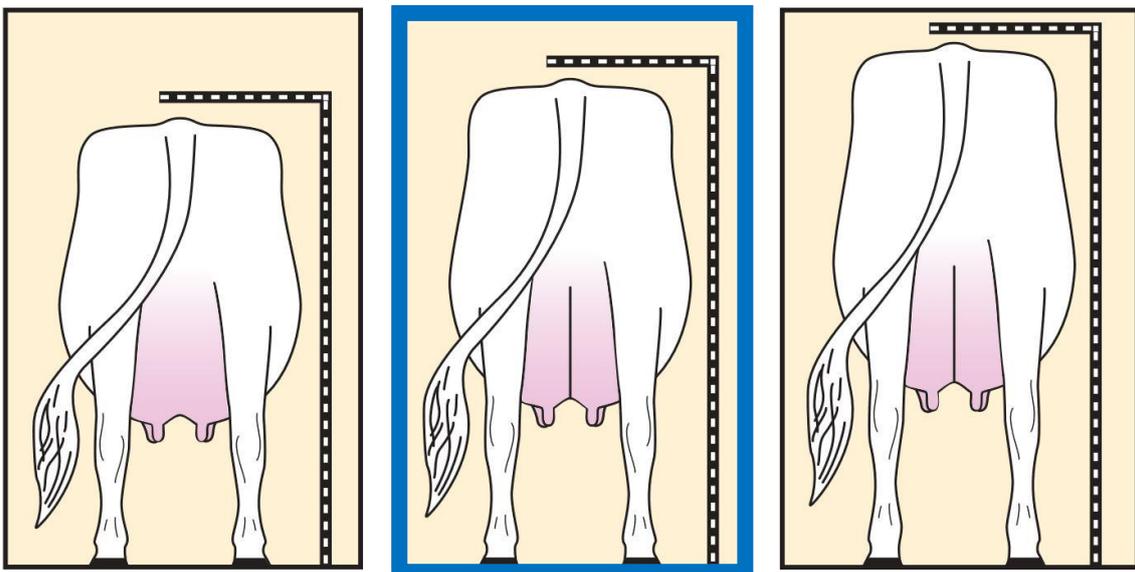
**4.3. Ângulo do Pé** - assim como a curvatura das pernas, determina a vida útil dos animais e a durabilidade dos aprumos. Os cascos ideais se apresentam com talões altos, correto ângulo entre a parede do casco e o solo. Nesta característica, observa-se o ângulo formado entre a parede do casco e o solo.



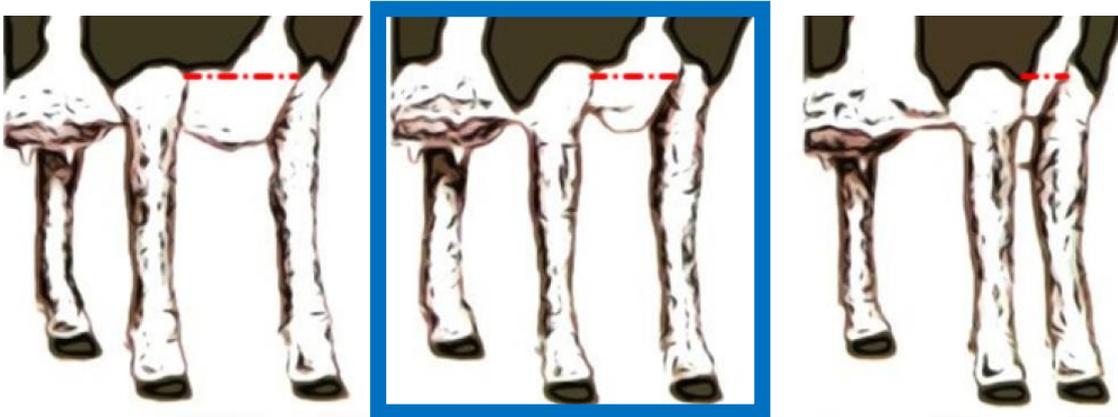
## 5. FORÇA LEITEIRA

**5.1. Estatura:** a importância em se avaliar esta característica tem relação com a funcionalidade da vaca leiteira, ou seja, ao seu consumo (vacas muito altas tem

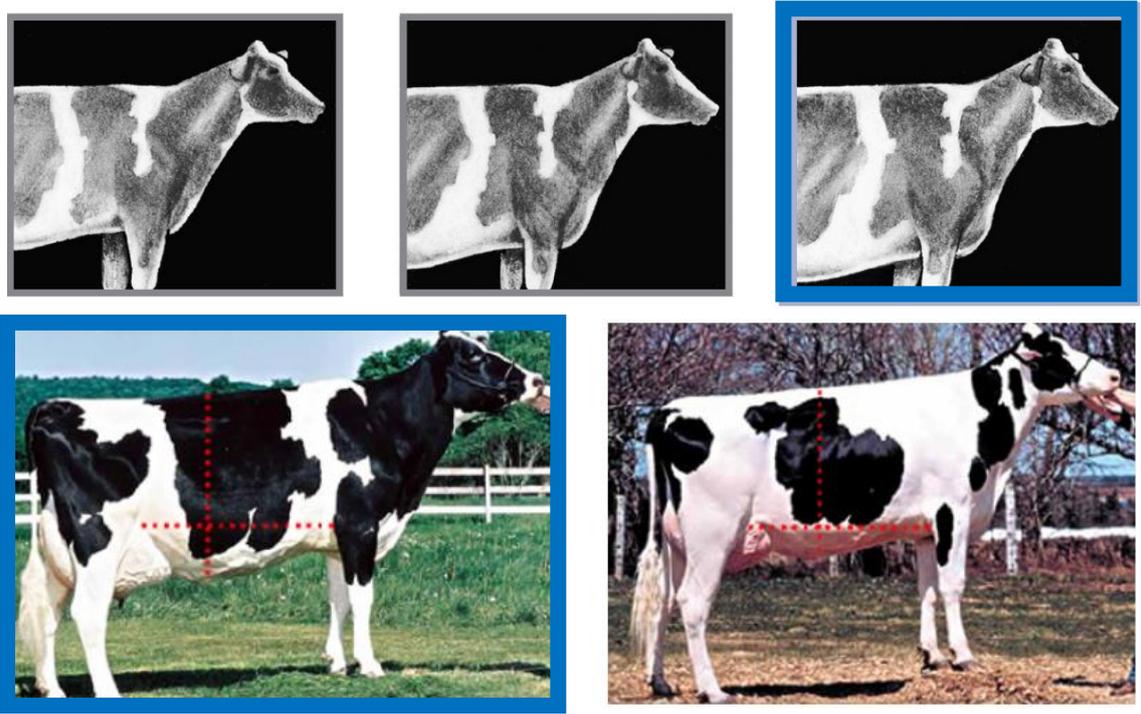
um corpo muito grande, com uma conversão alimentar não tão eficiente quando comparadas a uma vaca mediana), proteção do úbere (pernas mais longas mantêm o úbere mais distante do chão) e instalações (de uma forma geral, tendem a se adaptar melhor as vacas medianas). Vaca alta demais, extremamente forte, perde em equilíbrio. Era comum no passado selecionar animais assim. Porém, observou-se animais de menor estatura com produção semelhante. Em sistemas intensivos de produção, por exemplo, vacas altas demais tendem a ficar mal acomodadas nas camas de *free stall*, tendo dificuldade em deitar-se e levantar. Vacas que se deitam em pisos contaminados com fezes e urina estão mais susceptíveis à mastite e ao desconforto, ocasionando queda de produção. As salas de ordenha são projetadas com dimensões padrão. Vacas muito altas e grandes não irão ficar devidamente alocadas, prejudicando a ordenha. Já as vacas pequenas demais, se deitam muito para dentro nas camas, defecando e urinando nas mesmas, propiciando o acúmulo de umidade e matéria orgânica, favorecendo contaminações. Vacas medianas (HOL - 1,42m; JER - 1,25m) são mais adequadas à maioria das instalações, independente do sistema de produção, produzindo eficientemente e com boa conversão alimentar. Um animal da raça holandesa, por exemplo, em idade adulta, teria cerca de 600 a 650kg. A medição é feita na parte posterior do animal, da apófise lombar até o chão. O que se busca hoje é uma vaca retilínea, que pode ser levemente inclinada na frente. Para medir um animal é preciso que o local seja plano e o menos irregular possível.



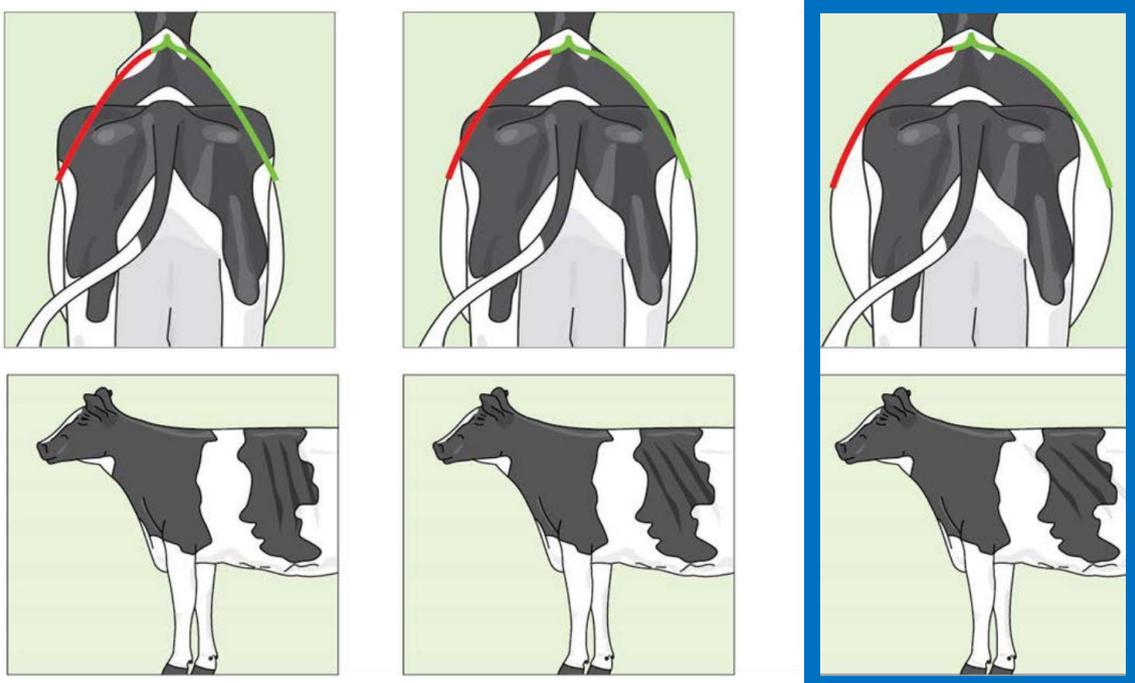
**5.2. Abertura de Peito:** Sabia que para produzir 1 litro de leite são necessários 500 litros de sangue? Os sistemas respiratório e circulatório são responsáveis por este bombeamento de sangue, que garante a produção de leite. Uma estrutura torácica forte e ampla evita constrição dos sistemas, dando ao animal a habilidade para sustentar várias lactações e boa produção. A abertura de peito deve ser observada na base (do assoalho do peito entre as mãos, primeiras costelas, expressando a área cardíaca e respiratória). Está relacionada com a força e vigor por todo o corpo. Uma boa vaca deve ser de mediana para forte. A largura e a profundidade do tórax são delimitadas pelas distâncias entre os sulcos onde os antebraços unem-se a parede do corpo, formando a base do peito, determinando a abertura dos membros anteriores quando vistos de frente.



**5.3. Profundidade de Corpo:** importante característica na avaliação da capacidade do animal em consumir e armazenar alimento. Lembrando que as vacas leiteiras são ruminantes e dessa forma se alimentam em maiores proporções de alimentos fibrosos, os quais necessitam de maior volume no sistema digestório do animal. Característica determinada observando-se o animal de perfil. A correta observação da profundidade de corpo seria traçando uma linha imaginária horizontal, a qual parte do cotovelo da vaca e vai até a virilha, e outra linha vertical, que se encaixa na região das últimas costelas.



**5.4. Forma Leiteira:** nesta característica a maior ênfase é dada à abertura, forma e angulosidade das costelas. Ainda se considera comprimento do pescoço, quarto traseiro descarnado, e ossatura chata e plana ao nível da garupa e do jarrete e pele fina (feminilidade). O estágio de lactação não deve ser considerado para se fazer essa avaliação. Característica determinada observando-se o animal de perfil. Avalia-se a amplitude, espaçamento e obliquidade de costelas.



## 6. GARUPA

**6.1. Nivelamento da Garupa:** característica também chamada ângulo da garupa ou inclinação da garupa, é avaliada traçando-se uma linha entre a ponta do íleo e a ponta do ísquio. Tanto o nivelamento quanto a largura, que veremos posteriormente, são características que estão relacionadas diretamente com facilidade de parto, ou seja, ligadas ao desempenho reprodutivo. O ideal é que os ísquios estejam posicionados em um nível abaixo dos íleos. São chamadas garupas “invertidas” aquelas em que a ponta do ísquio está mais alta do que a ponta do íleo. Vacas com esta característica apresentam maior dificuldade de parto, pior drenagem do trato reprodutivo no pós-parto, prejudicando a eficiência reprodutiva. Garupa “escorrida” é aquela em que a ponta do ísquio está exageradamente abaixo da ponta do íleo. Este posicionamento da garupa pode vir a acarretar pressão sobre os ligamentos do úbere, particularmente o ligamento central, problemas na altura do úbere posterior, nos aprumos e dificuldade de locomoção.



**6.2. Largura de Garupa:** é também relacionada à eficiência reprodutiva. Além disso, tem uma ligeira correlação com largura de úbere posterior e aprumos (abertura das articulações coxofemorais). Independente da raça, é determinada pelo espaço entre as pontas dos ísquios, visto por trás.



## 7. Considerações Finais

O produtor determina quando quer descartar a vaca, seja por qualquer razão, no intuito de aprimorar o rebanho. Já no descarte involuntário, o produtor é forçado a descartar o animal, por várias razões (problemas reprodutivos, de casco, de úbere, de saúde ou morte). Este descarte é desfavorável, pois o valor de venda é geralmente mais baixo.

Cuidado ao avaliar um animal. Foto não permite avaliá-lo com precisão. É importante avaliar não só as características morfológicas, mas também o seu histórico produtivo e sanitário.

Cada vez mais o produtor busca vacas de maior eficiência e vida útil, que são aquelas que correspondem em:

- ✓ Alta produção de leite e boa produção de sólidos;
- ✓ Características desejáveis de úbere;
- ✓ Aprumos corretos;
- ✓ Estrutura física equilibrada;
- ✓ Boa capacidade reprodutiva;
- ✓ Ótima habilidade de parto;
- ✓ Produção de bezerras viáveis;
- ✓ Resistência a doenças.

São por estas razões é que, além da conformação do animal, as características de saúde estão sendo cada vez mais valorizadas pelo produtor. A seleção genética destas características desejáveis é uma das ferramentas para que estes objetivos sejam alcançados, juntamente a boas práticas de manejo e um meio ambiente apropriado.

Por isso, a vaca e a raça ideal são aquelas que melhor se adaptam ao sistema de produção específico, gerando receita ao produtor.

## 8. Fontes

Holstein Canada

([https://www.holstein.ca/Public/en/Services/Classification/Breakdown\\_of\\_Traits](https://www.holstein.ca/Public/en/Services/Classification/Breakdown_of_Traits))

Holstein Association USA (<https://www.holsteinusa.com/>)

World Holstein Friesian Federation (<http://www.whff.info/>)

**Autor**

Fabio Nogueira Fogaça

Gerente de Produto na Alta Genetics

---

## Impacto dos nutracêuticos no desempenho reprodutivo de bovinos

Diego Andres Velasco-Acosta

O período de transição de uma vaca leiteira tem sido tradicionalmente definido a partir de três semanas pré-parto até três semanas pós-parto (Drackley, 1999). Neste período, as vacas leiteiras frequentemente experimentam balanço energético negativo (BEN) que induz excessiva mobilização de tecidos, principalmente gordura, mas também proteínas (Komaragiri and Erdman, 1997). A duração e a intensidade do BEN pós-parto estão negativamente associadas ao desempenho reprodutivo. Vacas que experimentam um BEN mais intenso têm um atraso no retorno na atividade ovariana pós-parto, e, conseqüentemente, demoram mais para conceber (Butler and Smith, 1989; Jarritsma *et al.*, 2000; Staples *et al.*, 1999). Os mecanismos através dos quais o BEN durante o período de transição tem um efeito sobre o desempenho reprodutivo não tinham sido compreendidos a profundidade (Chapinal *et al.*, 2012), no entanto, o uso das técnicas-ômicas abriu um novo caminho para examinar processos biológicos complexos com o potencial de fornecer uma melhor compreensão por meio da quantificação de várias moléculas ligadas ao metabolismo (Turner *et al.*, 2021). Sabe-se que o BEN envolve a redução nos hormônios metabólicos, tais como a insulina e o fator de crescimento semelhante à insulina de tipo 1 (IGF-1) (Leon *et al.*, 2004) e aumento nos níveis de ácidos graxos não esterificados (AGNE) e  $\beta$ -hidroxibutirato (BHBA). Sabe-se ademais que os AGNE e BHBA têm um efeito tóxico direto nos oócitos maturados *in vitro* (Leroy *et al.*, 2006). Por outro lado, vacas leiteiras de alto rendimento que apresentam BEN, apresentam uma alteração na sinalização do IGF-1 no oviduto, o que reflete em efeitos adversos no desenvolvimento embrionário, derivando em altas taxas de mortalidade embrionária (Fenwich *et al.*, 2008).

No pós-parto recente (primeiras três semanas) há uma insuficiência de carboidratos que aumenta a produção de corpos cetônicos no fígado (Drackley *et al.*, 2001). O BEN e as altas concentrações de AGNE no sangue contribuem para o desenvolvimento da síndrome do fígado graxo que, por sua vez, é um fator que contribui para outros problemas metabólicos e de imunossupressão (Kehrli *et al.*, 2006) que, direta ou indiretamente, podem afetar o desempenho reprodutivo da vaca leiteira (Reist *et al.*, 2000; Dubuc *et al.*, 2010).

Assim, diferentes estratégias vêm sendo utilizadas para minimizar os efeitos negativos do período de transição sobre o metabolismo, imunidade e, conseqüentemente, sobre a reprodução. Estratégias nutricionais, farmacêuticas, de manejo e de alimentação durante o período pré e pós-parto têm um impacto na saúde, produtividade e fertilidade da vaca leiteira.

### **1. Nutracêuticos no retorno à atividade ovariana pós-parto**

A intensidade e duração do BEN durante as primeiras semanas pós-parto têm sido correlacionadas com o intervalo entre o parto e a primeira ovulação (Lucy *et al.*, 1991; Beam and Butler, 1998). É geralmente aceito que a vaca que retoma a funcionalidade ovariana rapidamente, apresenta uma maior fertilidade (Staples *et al.*, 1990).

Durante o pós-parto recente existe uma grande demanda de glicose pela glândula mamária, o que pode diminuir sua disponibilidade para outros tecidos, incluindo aqueles que estão envolvidos na reprodução (Wathes *et al.*, 2011, Green *et al.*, 2012). Uma baixa concentração de glicose intra-folicular coincide com baixa concentração de insulina no fluido folicular, e as concentrações de ambos os parâmetros são influenciadas pela dieta (Landau *et al.*, 2000). Ainda, a glicose é extremamente importante para a proliferação das células da teca e a sua atividade esteroidogênica (Stewart *et al.*, 1995).

No ovário, os receptores para insulina estão amplamente distribuídos pelos diferentes tipos de células, incluindo células da granulosa, teca, estroma (Poretsky and Kalin, 1987) e luteais (Mamluk *et al.*, 1999). Em condições *in vitro*, a insulina aumenta a esteroidogênese em resposta às gonadotrofinas (Stewart *et al.*, 1995; Silva and Price, 2002). Adicionalmente, baixas concentrações de insulina no sangue induzem a lipólise e elevam as concentrações de AGNE, o

que, por sua vez, têm um efeito prejudicial na função das células da granulosa (Vanholder *et al.*, 2005).

A somatotropina bovina, também conhecida como hormônio do crescimento (GH), é um péptido produzido naturalmente pela glândula pituitária (Bauman, 1992), que apresenta ação homeorrética, atuando na regulação da partição de nutrientes. Seu uso farmacológico está indicado para aumentar a produção e melhorar a eficiência na síntese de leite no período pós-parto (Bauman, 1999). Entretanto, tem sido utilizado no período pré-parto devido a suas funções de modulação metabólica com o intuito de melhorar o retorno à atividade reprodutiva pós-parto.

A somatotropina estimula a produção hepática do fator de crescimento semelhante a insulina de tipo 1 (IGF-1), e a exposição prolongada a concentrações elevadas de somatotropina circulante pode induzir a resistência à insulina (Scaramuzzi *et al.*, 2011). A maior parte do IGF-1 sérico é sintetizado no fígado, em resposta ao GH agindo através de seu receptor (Jiang and Lucy, 2001). De fato, o IGF-1 derivado do fígado é um fator de regulação da maturação final do folículo dominante durante a primeira onda folicular pós-parto (Beam and Butler, 1998), pois sabe-se que o IGF-1 circulante em vacas que ovulam a primeira onda folicular pós-parto é maior do que em vacas anovulatórias (Beam and Butler, 1998; Kawashima *et al.*, 2007a; Kawashima *et al.*, 2007b). Além disso, o IGF-1 parece desempenhar um papel chave no aumento da sensibilidade de pequenos folículos antrais ( $\leq 5$  mm de diâmetro) à ação das gonadotrofinas (Scaramuzzi *et al.*, 2011). O IGF-1 também desempenha um papel importante na transição dos folículos para a fase folicular dependente de gonadotrofinas (Mazerbourg *et al.*, 2003).

Estudos com somatotropina injetável durante o periparto demonstraram que a sua administração aumenta as concentrações de IGF-1 pré e pós-parto (Schneider *et al.*, 2011; Carriquiry *et al.*, 2009), além de aumentar a ingestão de matéria seca (IMS) (Gulay *et al.*, 2004; Putnam *et al.*, 1999), a glicose pós-parto (Putnam *et al.*, 1999; Carriquiry *et al.*, 2009) e possivelmente começar uma mobilização de AGNE no período pré-parto (Velasco-Acosta *et al.*, 2013). Ademais, reduz a mobilização de AGNE e formação de BHBA no período pós-parto (Schneider *et al.*, 2011; Putnam *et al.*, 1999). Adicionalmente, Velasco-Acosta *et al.* (2017) encontraram maiores concentrações de IGF-I e estrógenos

no fluido folicular, além de uma maior expressão do receptor da hormona luteinizante (*LHCGR*) e da proteína reguladora aguda da esteroidogênese (*STAR*) em novilhas tratadas no pré-parto com somatotropina. O anterior sugere que a injeção de somatotropina no pré-parto pode melhorar a adaptação metabólica durante o período de transição em vacas leiteiras favorecendo o retorno à atividade reprodutiva pós-parto.

Da mesma forma, a suplementação com aminoácidos ou nutrientes essenciais com capacidade de modificar o metabolismo, também tem sido utilizada no período de transição, na tentativa de melhorar o retorno à atividade reprodutiva pós-parto. A metionina, por exemplo, desempenha um papel direto na síntese de lipoproteínas de baixa densidade (VLDL) em bovinos (Auboiron *et al.*, 1995), diminuindo os efeitos negativos da acumulação de ácidos graxos no fígado (Drackley, 1999). Além disso, o aumento da biodisponibilidade de metionina em vacas suplementadas com metionina protegida da degradação ruminal (MPDR) (Graulet *et al.*, 2005) tende a aumentar a entrada de metionina no ciclo do metabolismo de 1-carbono, onde inicialmente pode ser convertida a s-adenosilmetionina (SAM), a molécula biológica mais importante em termos de doação de grupamentos metil (Martinov *et al.*, 2010). A disponibilidade de SAM é essencial no mecanismo de metilação do DNA, um processo biológico importante para a regulação da expressão gênica (Li and Zhang, 2014).

Por sua vez, a colina é um componente chave para a síntese das moléculas de fosfatidilcolina (FC) e acetilcolina (Pinotti *et al.*, 2002). A FC é essencial para manter a membrana estrutural das células (Davidson *et al.*, 2008), além da síntese hepática e secreção de VLDL (Cooke *et al.*, 2007). Quando a FC é o fator limitante, a suplementação com colina pode melhorar a taxa de síntese de VLDL e assim, evitar a acumulação excessiva de triacilglicerol (TAG) no fígado (Grummer, 2008).

A suplementação com metionina e colina no período de transição produz um “*dawn regulation*” dos genes pro-inflamatórios, possivelmente indicando um processo inflamatório menor no primeiro folículo dominante pós-parto (Velasco-Acosta *et al.* 2017) Além disso, a suplementação com metionina aumentou a expressão do gene *3B-HSD*, que, junto com uma maior expressão do receptor de LH, estão relacionados com a seleção do folículo dominante em bovinos (Bao and Garverick, 1998). Além disso, uma maior expressão de *3B-HSD* pode ser

benéfica, pois é essencial para a biossíntese de todas as classes de hormônios esteroides, incluído progesterona e estrógenos (Boerboom and Sirois, 2001).

## 2. Nutracêuticos na saúde uterina pós-parto

A retenção de placenta, metrite e endometrite são doenças decorrentes do comprometimento da função imunológica e podem ter efeitos negativos duradouros na saúde uterina (LeBlanc, 2008). Reduzir o risco de distúrbios metabólicos melhorando a função hepática e aumentando a função imunológica no período de transição é a chave para uma melhor saúde reprodutiva. O uso de estratégias de suplementação nutricional com nutrientes funcionais, visando aumentar a imunocompetência geral e a função dos neutrófilos, é uma forma atraente para controlar infecções uterinas (Cullens *et al.*, 2004).

Vacas que receberam uma suplementação combinada de metionina e colina não apresentaram incidência de retenção de placenta e tiveram uma menor descarga mucopurulenta (Skenandore *et al.*, 2017), indicando que o uso de estratégias nutricionais no período do parto pode ser benéfico para a saúde uterina pós-parto. Além disso, a suplementação com MPDR resulta em uma melhora da função imunológica uterina devido a uma melhora na morfologia glandular e a um aumento no número de infiltração de neutrófilos após o parto (Stella *et al.*, 2018). Assim mesmo, as vacas tratadas com MPDR durante o período de transição apresentam uma menor expressão de mRNA dos genes *IL6*, *IL8*, *1LB*, *PTGES3*, *TSPO*, *SOD1* e *MUC1*, todos envolvidos nos processos inflamatórios, isto durante os primeiros 15 dias após o parto, indicando um ambiente uterino com menor inflamação, e dessa forma refletindo em um melhor mecanismo de resiliência uterina e capacidade para prevenir o aparecimento de doenças no útero (Guadagnin *et al.*, 2021). Ainda, a suplementação com MPDR durante o período de transição produz uma maior expressão de mRNA de *FGF7*, *MATA1A*, *LCAT* e *SAAH*, demonstrado que também pode estar envolvido no metabolismo dos nutrientes no interior das células, assim como nos processos de proliferação celular que são cruciais para a regeneração uterina e preparação para concepção (Guadagnin *et al.*, 2021).

Por outro lado, os ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) modulam o metabolismo celular, além de servirem como fonte de energia. Assim, foi relatado que os PUFA influenciam a expressão gênica em diferentes tecidos (Peterson *et*

*al.* 2003), incluindo as células endometriais (Mattos *et al.*, 2004; Bilby *et al.*, 2006b), e os hepatócitos (Selberg *et al.*, 2005). Além disso, a suplementação com sal de cálcio enriquecido com ácidos linoléico e trans-octadecenóico durante o período de transição melhora a fertilidade das vacas, possivelmente, por meio da melhora na qualidade do embrião, a saúde uterina ou ambos (Juchem *et al.*, 2010). Dessa forma, vacas que têm uma suplementação estratégica no período de transição podem apresentar uma melhor resposta metabólica-inflamatória, o que pode levar a melhora na saúde uterina pós-parto.

### 3. Nutracêuticos e desenvolvimento embrionário

O uso de nutracêuticos tem recebido uma crescente atenção pela sua melhoria da saúde, bem-estar e produtividade animal. O uso de estratégias nutracêuticos como a metionina tem-se mostrado importantes na produtividade de vacas leiteiras. Metionina é o amino ácido mais limitante em vacas em lactação (NRC, 2001), mas a suplementação de dietas com metionina foi excluída porque a metionina livre é quase totalmente degradada pelos microrganismos no rúmen (NRC, 2001). Em contraste, a suplementação com MPDR tem um efeito positivo na síntese de proteína do leite em vacas leiteiras. Embora o papel da metionina no desenvolvimento embrionário bovino não seja completamente conhecido, há evidências de que a disponibilidade da metionina altera o transcriptoma de embriões bovinos *in vivo*. Além disso, a suplementação com MPDR pode afetar a metilação global do DNA e acúmulo de lipídios em embriões (Velasco-Acosta *et al.*, 2016), indicando que a adição de metionina parece impactar o embrião de uma forma que aumenta sua capacidade de sobrevivência, uma vez que há fortes evidências de que as reservas lipídicas endógenas servem como substrato energético.

No estágio inicial da atividade metabólica embrionária, há uma capacidade limitada do embrião para metabolizar a glicose e, dessa forma, tanto o piruvato, como o lactato e os aminoácidos tornam-se os substratos energéticos críticos (Carrillo-González *et al.*, 2021). Carnitina (3-hidroxi-4-N-trimetilamôniobutanoato) é uma molécula essencial solúvel em água com múltiplas funções no corpo (Almannai *et al.*, 2019). Possui dois estereoisômeros: L-carnitina bioativa e isômero enantiomérico abiótico D-carnitina. A L-carnitina desempenha um papel vital no metabolismo celular, associada ao transporte de

ácidos graxos para a mitocôndria para a geração de ATP (Carrillo-González *et al.*, 2021). A adição de L-carnitina em meios de produção *in vitro* de embriões aumenta a taxa de final de blastocistos, aparentemente melhorando sua competência de desenvolvimento (Ghanem *et al.*, 2011; Hwang and Hochi, 2014). A L-carnitina também melhora a sobrevivência dos embriões submetidos a vitrificação/aquecimento, (Ghanem *et al.*, 2011; Ghanem, 2015). Porém, o uso de nutracêuticos *in vivo* e seu efeito sobre o desenvolvimento embrionário não tem sido amplamente avaliado.

#### 4. Referências

ALMANNAI, M.; ALFADHEL, M.; EL-HATTAB, A. W. **Carnitine inborn errors of metabolism. *Molecules***, 24:3251, 2019.

AUBOIRON, S.; D. DURAND, J. C.; ROBERT, M. J.; CHAPMAN; D. BAUCHART. Effects of dietary fat and L-methionine on the hepatic metabolism of very low density lipoproteins in the preruminant calf, *Bos spp.* **Reproduction, Nutrition, Development**, v. 35, n. 2, p.167-178, 1995.

BAO, B.; GARVERICK, H. A. Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 1903-21,1998.

BAUMAN, D. E. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 12, p. 3432-3451,1992.

BAUMAN, D.E. Bovine somatotropin and lactation: from basic science to commercial application. **Domest Animal Endocrinol**, 17:101-16, 1999.

BEAM, S. W.; BUTLER, W. R. Energy Balance, Metabolic Hormones, and Early Postpartum Follicular Development in Dairy Cows Fed Prilled Lipid. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 7, p. 121-131, 1998.

BOERBOOM, D.; SIROIS, J. Equine P450 cholesterol side-chain cleavage and 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/delta(5)-delta(4) isomerase: molecular cloning and regulation of their messenger ribonucleic acids in equine follicles during the ovulatory process. **Biology of Reproduction**, 64:206-15, 2001.

BUTLER, W. R.; SMITH, B. A. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 767-783, 1989.

CARRIQUIRY, M.; WEBER, W. J.; DAHLEN, C. R.; LAMB, G. C.; BAUMGARD, L. H.; CROOKER, B. A.; Production response of multiparous Holstein cows treated with bovine somatotropin and fed diets enriched with n-3 or n-6 fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 4852-4864, 2009.

CARRILLO-GONZÁLEZ, D. F.; DARWIN, Y.; HERNÁNDEZ-HERRERA; JUAN, G. M-E. The role of L-carnitine in bovine embryo metabolism. A review of the effect of supplementation with a metabolic modulator on in vitro embryo production, **Animal Biotechnology**, 2021.

CHAPINAL, N.; CARSON, M. E.; LEBLANC, S. J.; LESLIE, K. E.; GODDEN, S.; CAPEL, M.; SANTOS, J. E.; OVERTON, M. W.; DUFFIELD, T. F. The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 3, p. 1301-1309, 2012.

COOKE, R. F.; SILVA DEL RIO, N.; CARAVIELLO, D. Z.; BERTICS, S. J.; RAMOS, M. H.; GRUMMER, R. R.. Supplemental choline for prevention and alleviation of fatty liver in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 5, p. 2413-2418, 2007.

CULLENS, F. M.; STAPLES, C. R.; BILBY, T. R.; SILVESTRE, F.; BARTOLOME, J.; SOZZI, A.; *et al.* Effect of timing of initiation of fat supplementation on milk production, plasma hormones and metabolites, and conception rates of Holstein cows in summer. **Journal of Dairy Science**, v. 87 (Suppl 1), p. 308, 2004.

DAVIDSON, S.; HOPKINS, B. A.; ODLE, J.; BROWNIE, C.; FELLNER, V.; L. WHITLOW, W. Supplementing limited methionine diets with rumen-protected methionine, betaine, and choline in early lactation Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n.4, p.1552-1559, 2008.

DRACKLEY, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2259-2273, 1999.

DRACKLEY, J. K.; OVERTON, T.R.; DOUGLAS, G.N. Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 100-112, 2001.

DUBUC, J.; DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E.; WALTON, J. S.; LEBLANC, S.J. Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 5764-5771, 2010.

FENWICK, M. A.; LLEWELLYN, S.; FITZPATRICK, R.; KENNY, D. A.; MURPHY, J. J.; PATTON, J.; WATHES, D. C. Negative energy balance in dairy cows is associated with specific changes in IGF-binding protein expression in the oviduct. **Reproduction**, v. 135, n. 1, p. 63–75, 2008.

GHANEM, N.; SALILEW-WONDIM, D.; GAD, A.; et. al. Bovine blastocysts with developmental competence to term share similar expression of developmentally important genes although derived from different culture environments. **Reproduction**, v. 142, n. 4, p.551–564, 2011.

GHANEM, N. L-carnitine improved bovine blastocyst rate and quality when supplemented at different preimplantation stages. **Egyptian Journal of Animal Production**, v. 52, n. 2, p. 82–89, 2015.

GRAULET, B.; RICHARD, C.; ROBERT, J. C. Methionine availability in plasma of dairy cows supplemented with methionine hydroxy analog isopropyl ester. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 10, p. 3640-3649, 2005.

GREEN, J. C., MEYER, J. P.; WILLIAMS, A. M.; NEWSOM, E. M.; KEISLER, D. H.; LUCY, M. C. Pregnancy development from day 28 to 42 of gestation in postpartum Holstein cows that were either milked (lactating) or not milked (not lactating) after calving. **Reproduction** v. 143, n. 5, p. 699-711, 2012.

GRUMMER, R. R. Nutritional and management strategies for the prevention of fatty liver in dairy cattle. **Veterinary Journal**, v. 176, n.1, p. 10-20, 2008.

GULAY, M. S; HAYEN, M. J.; LIBONI, M.; BELLOSO, T. I.; WILCOX, C. J.; HEAD, H.H. Low doses of bovine somatotropin during the transition period and early lactation improves milk yield, efficiency of production, and other physiological responses of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 948-960, 2004.

GUADAGNIN, A. R.; VELASCO-ACOSTA, D. A.; STELLA, S. L.; LUCHINI, D.; CARDOSO, F. C. Methionine supply during the peripartum period and early lactation alter immunometabolic gene expression in cytological smear and endometrial tissue of holstein cows. **Theriogenology**. Oct 1, p. 173:102-111, 2021.

HWANG, I. S.; HOCHI, S. Recent progress in cryopreservation of bovine oocytes. **BioMed Research International**, 1–11, 2014.

JIANG, H.; LUCY, M. C. Variants of the 5'-untranslated region of the bovine growth hormone receptor mRNA: isolation, expression and effects on translational efficiency. **Gene**, v.265, n.1-2, p. 45-53, 2001.

JORRITSMA, R.; JORRITSMA, H.; SCHUKKEN, Y.H.; WENTINK, G. H. Relationships between fatty liver and fertility and some periparturient diseases in commercial Dutch dairy herds. **Theriogenology**, v. 54, p. 1065-1074, 2000.

JUCHEM, S.; CERRI, R.; VILLASEÑOR, M.; GALVÃO, K.; BRUNO, R.; RUTIGLIANO, H.; DEPETERS, E.; SILVESTRE, F.; THATCHER, W.; SANTOS, J. Supplementation with Calcium Salts of Linoleic and trans-Octadecenoic Acids Improves Fertility of Lactating Dairy Cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 45, p. 55-62, 2010.

KAWASHIMA, C.; FUKIHARA, S.; MAEDA, M.; KANEKO, E.; MONTOYA, C. A.; MATSUI, M. et al. Relationship between metabolic hormones and ovulation of dominant follicle during the first follicular wave post-partum in high-producing dairy cows. **Reproduction**, v. 133, n.1, p.155-163, 2007a.

KAWASHIMA, C.; SAKAGUCHI, M.; SUZUKI, T.; SASAMOTO, Y.; TAKAHASHI, Y.; MATSUI, M.; MIYAMOTO, A. Metabolic profiles in ovulatory and anovulatory primiparous dairy cows during the first follicular wave postpartum. **The Journal of Reproduction and Development**, v.53, n.1, p. 113-120, 2007b.

KOMARAGIRI, M.V.; ERDMAN, R. A. Factors affecting body tissue mobilization in early lactation dairy cows. 1. Effect of dietary protein on mobilization of body fat and protein. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 929-37, 1997.

LANDAU, S.; BRAW-TAL, R.; KAIM, M.; BOR, A; BRUCKENTAL, I. Preovulatory follicular status and diet affect the insulin and glucose content of follicles in high-

yielding dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 64, n. 3-4, p. 181-197, 2000.

LEBLANC, S. J. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: a review. **Veterinary Journal**, v. 176, p. 102-114, 2008.

LEROY, J. L.; VANHOLDER, T.; DELANGHE, J. R.; OPSOMER, G.; VAN SOOM, A.; BOLS, P. E.; et. al. Metabolic changes in follicular fluid of the dominant follicle in high-yielding dairy cows early post partum. **Theriogenology** v. 62, n. 6, p. 1131-1143, 2004.

LI, E.; ZHANG, Y. DNA methylation in mammals. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, 6(5):a019133, 2014.

LUCY, M. C.; STAPLES, C. R.; MICHEL, F. M.; THATCHER, W. W. Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n.2, p. 473-482, 1991.

MAMLUK, R.; GREBER, Y.; MEIDAN, R. Hormonal regulation of messenger ribonucleic acid expression for steroidogenic factor-1, steroidogenic acute regulatory protein, and cytochrome P450 side-chain cleavage in bovine luteal cells. **Biology of Reproduction**, v. 60, n. 3, p. 628-634, 1999.

MARTINOV, M. V.; VITVITSKY, V. M.; BANERJEE, R.; ATAULLAKHANOV, F. I. The logic of the hepatic methionine metabolic cycle. **Biochimica et Biophysica Acta** v. 1804, n.1, p. 89-96, 2010.

MAZERBOURG, S.; BONDY, C. A.; ZHOU, J.; MONGET, P. The insulin-like growth factor system: a key determinant role in the growth and selection of ovarian follicles? a comparative species study. **Reproduction in Domestic Animals**, v.38, n. 4, p. 247-258, 2003.

MONNIAUX, C. V.; WEBB, R. Regulation of folliculogenesis and the determination of ovulation rate in ruminants. **Reproduction, Fertility, and Development**, v. 23, n.3, p. 444-467, 2011.

NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle** 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC. 2001.

ORDWAY, R. S.; BOUCHER, S. E.; WHITEHOUSE, N. L.; SCHWAB, C. G.; SLOAN, B. K. Effects of providing two forms of supplemental methionine to periparturient Holstein dairy cows on feed intake and lactational performance. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 5154-66, 2009.

PINOTTI, L.; BALDI, A.; DELL'ORTO, V. Comparative mammalian choline metabolism with emphasis on the high-yielding dairy cow. **Nutrition Research Reviews**, v. 15, n. 2, p. 315-332, 2002.

PORETSKY, L.; KALIN, M. F. The gonadotropic function of insulin. **Endocrine Reviews** v. 8, n. 2, p. 132-141, 1987.

PISULEWSKI, P. M.; RULQUIN, H.; PEYRAUD, J. L.; VERITE, R. Lactational and systemic responses of dairy cows to postruminal infusions of increasing amounts of methionine. **Journal of Dairy Science**, v. 79, p. 1781-91, 1996.

PUTNAM, D. E.; VARGA, G. A.; DANN, H. M. Metabolic and production responses to dietary protein and exogenous somatotropin in late gestation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 982-995, 1999.

REIST, M.; KOLLER, A.; BUSATO, A.; KUPFER, U.; BLUM, J.W. First ovulation and ketone body status in the early postpartum period of dairy cows. **Theriogenology**, v. 54, p. 685-701, 2000.

SCARAMUZZI, R. J.; BAIRD, D. T.; CAMPBELL, B. K.; DRIANCOURT, M. A.; DUPONT, J.; FORTUNE, J. E.; et. al. Effect of prepartum somatotropin injection in late-pregnant Holstein heifers on metabolism, milk production and postpartum resumption of ovulation. **Animal**, v. 6, p. 935-940, 2011.

SILVA, J. M.; PRICE, C. A. Insulin and IGF-I are necessary for FSH-induced cytochrome P450 aromatase but not cytochrome P450 side-chain cleavage gene expression in oestrogenic bovine granulosa cells in vitro. **The Journal of Endocrinology** v. 174, n. 3, p. 499-507, 2002.

SKENANDORE, C. S.; ACOSTA, D. A. V.; ZHOU, Z.; RIVELLI, M. I.; CORRÊA, M. N.; LUCHINI, D.N.; CARDOSO, F.C. Effects of rumen-protected methionine and choline supplementation on vaginal discharge and uterine cytology of Holstein cows, **International Journal of Veterinary Science and Medicine**, v.5, p. 1-7, 2017.

STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W.; CLARK, J. H. Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 938-947, 1990.

STELLA, S. L.; VELASCO-ACOSTA, D. A.; SKENANDORE, C.; ZHOU, Z.; STEELMAN, A.; LUCHINI, D.; CARDOSO, F. C. Improved uterine immune mediators in Holstein cows supplemented with rumen-protected methionine and discovery of neutrophil extracellular traps (NET). **Theriogenology**, Jul 1;114:116-125, 2018.

STEWART, R. E., SPICER, L. J.; HAMILTON, T. D., KEEFER, B. E. Effects of insulin-like growth factor I and insulin on proliferation and on basal and luteinizing hormone-induced steroidogenesis of bovine thecal cells: involvement of glucose and receptors for insulin-like growth factor I and luteinizing hormone. **Journal of Animal Science** v. 73, n. 12, p. 3719-3731, 1995.

SWARTZ, T. H.; MOALLEM, U.; KAMER, H.; KRA, G.; LEVIN, Y.; MAMEDOVA, L. K.; BRADFORD, B. J.; ZACHUT, M. Characterization of the liver proteome in dairy cows experiencing negative energy balance at early lactation, **Journal of Proteomics**, v.246, 104308, 2021.

VANHOLDER, T.; LEROY, J. L.; SOOM, A. V.; OPSOMER, G.; MAES, D.; CORYN, M.; KRUIF, A. Effect of non-esterified fatty acids on bovine granulosa cell steroidogenesis and proliferation in vitro. **Animal Reproduction Science**, v. 87, n. 1-2, p. 33-44, 2005.

VELASCO-ACOSTA, D. A.; DENICOL, A. C.; TRIBULO, P.; RIVELLI, M. I.; SKENANDORE, C.; ZHOU, Z.; et. Al. Effects of rumen-protected methionine and choline supplementation on the preimplantation embryo in Holstein cows, **Theriogenology**, v.85, n. 9, p.1669-1679, 2016.

VELASCO-ACOSTA, D. A.; PFEIFER, L. F. M.; SCHMITT, E.; SCHNEIDER, A.; SILVEIRA, P. A.; JACOMETO, C. B.; et al. Effect of prepartum somatotropin injection in late pregnant Holstein heifers with high body condition score on metabolic parameters, resumption of ovulation and milk production. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 93, p. 287-292, 2013.

VELASCO-ACOSTA, D. A.; SCHNEIDER, A.; JACOMETO, C. B.; RINCON, J. A.; CARDOSO, F.; CORREA, M. N. Effect of bovine somatotropin injection in late

pregnant Holstein heifers on metabolic parameters and steroidogenic potential of the first postpartum dominant follicle. **Theriogenology**, v. 104, p. 164-172, 2017.

VELASCO-ACOSTA, D. A.; RIVELLI, M. I.; SKENANDORE, C.; ZHOU, Z.; KEISLER, D. H.; LUCHINI, D.; CORRÊA, M. N.; CARDOSO, F. C. Effects of rumen-protected methionine and choline supplementation on steroidogenic potential of the first postpartum dominant follicle and expression of immune mediators in Holstein cows, **Theriogenology**, v.96, p.1-9, 2017.

WATHES, D. C., CHENG, Z.; FENWICK, M. A.; FITZPATRICK, R.; PATTON, J. Influence of energy balance on the somatotrophic axis and matrix metalloproteinase expression in the endometrium of the postpartum dairy cow. **Reproduction**, v.141, n. 2, p. 269-281, 2011.

## **Autor**

Diego Andres Velasco-Acosta

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Agrosavia. Centro de Investigación Tibaitatá. Km. 14, vía Mosquera - Bogotá, Mosquera - Cundinamarca, Colombia.



**MERIDA**  
PUBLISHERS

[www.meridapublishers.com](http://www.meridapublishers.com)