



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

LIVIA GALIANO MANGILLI

**O COMPORTAMENTO DE DEFECAR NA POSIÇÃO
DEITADA EM VACAS LEITEIRAS CONFINADAS EM
*FREESTALL***

LIVIA GALIANO MANGILLI

**O COMPORTAMENTO DE DEFECAR NA POSIÇÃO
DEITADA EM VACAS LEITEIRAS CONFINADAS EM
*FREESTALL***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina
como requisito parcial para a obtenção do título de
Doutor.

Orientador: Prof. Dr. José Antonio Fregonesi

Londrina
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Mangilli, Livia Galiano.

O comportamento de defecar na posição deitada em vacas leiteiras em confinamento *freestall* / Livia Galiano Mangilli. - Londrina, 2019.
77 f. : il.

Orientador: José Antônio Fregonesi.

Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2019. Inclui bibliografia.

1. Bem-estar animal - Tese. 2. Bovinocultura leiteira - Tese. 3. Sistema *freestall* - Tese. I. Fregonesi, José Antônio. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

LIVIA GALIANO MANGILLI

**O COMPORTAMENTO DE DEFECAR NA POSIÇÃO DEITADA EM
VACAS LEITEIRAS EM CONFINAMENTO FREESTALL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal da Universidade Estadual de
Londrina como requisito parcial para a obtenção do
título de Doutor.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. José Antonio Fregonesi
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof^ª. Dr^ª. Carolina Amália de Souza Dantas Muniz
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Valter Harry Bumbieris Júnior
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Agostinho Ludovico
Universidade Norte do Paraná – UNOPAR

Prof^ª Dr^ª. Tatiane Vito Camiloti
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 08 de maio de 2019

A todos que acreditaram em mim, dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador José por me acolher, me orientar profissionalmente, pelas oportunidades de aprendizado, pela confiança, e por sua amizade ímpar.

Agradeço a Universidade Estadual de Londrina e ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal.

Agradeço a todos os professores e funcionários do Departamento de Zootecnia por estarem sempre dispostos a colaborar.

Agradeço a CAPES pela bolsa concedida.

Agradeço a University of British Columbia, Animal Welfare Program e UBC Dairy Education and Research Centre pela grande oportunidade de experiência acadêmica e pessoal.

Agradeço aos Professores Daniel Weary e Marina von Keyserlingk por me permitirem fazer parte do seu trabalho desenvolvido com tamanha excelência em todos os aspectos.

Agradeço a todos os alunos e funcionários da UBC Dairy Centre, com os quais compartilhei momentos únicos e inesquecíveis.

Agradeço a todos os amigos que conquistei nesta caminhada a favor do bem-estar animal, no Brasil e no Canadá. Em especial Tati, Andressa e Edi.

Agradeço aos meus pais, meu marido e minha irmã pela compreensão e incentivo.

Agradeço a Deus por estar sempre comigo.

MANGILLI, Livia Galiano. **O comportamento de defecar na posição deitada em vacas leiteiras em confinamento *freestall***. 2019. 77 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

RESUMO

O comportamento anormal de defecar na posição deitada tem sido observado em vacas leiteiras manejadas em sistema *freestall*. Identificar e avaliar os motivos que as levam a expressar este comportamento pode colaborar com melhorias no manejo e configuração do sistema produtivo, e consequentemente no conforto animal. Este é um estudo pioneiro que objetivou investigar fatores associados à expressão do comportamento de defecar na posição deitada em vacas leiteiras, e avaliar a influência de diferentes densidades sobre este comportamento, sobre a utilização do *freestall* e competição por baias individuais. Dois experimentos foram realizados na fazenda leiteira experimental da UBC. No primeiro experimento foram utilizadas 272 vacas da raça Holandesa em lactação manejadas em *freestall*. As vacas tinham produção de leite de $38,1 \pm 10,7$ kg/d e peso corporal de $710,4 \pm 88,9$ kg. Observações diretas foram realizadas com início as 05h00, 06h00, 07h00 e 08h00 nos dias 1, 2, 3 e 4, respectivamente, e seguiram a cada quatro horas ao longo do dia, totalizando cinco observações por dia. Este cronograma de quatro dias de observações foi realizado três vezes. Foram observados um total de 243 eventos de defecações na posição deitada e 6158 eventos de repouso deitado. As variáveis foram testadas por meio de regressão logística com seleção *stepwise*. A defecação deitada foi positivamente afetada por eventos de repouso deitado e pelo nível de produção de leite. Para cada unidade a mais no número de eventos de repouso deitado e na produção de leite a razão de chances para a defecação deitada aumentou em 0,04 e 2,7 ($P < 0,0202$ e $P < 0,0300$), respectivamente. No segundo experimento foram utilizadas 144 vacas em lactação, distribuídas ao acaso em quatro grupos de 36 vacas. Os grupos foram designados aleatoriamente aos tratamentos, em delineamento experimental *crossover*: (1) densidade animal de 100% (36 baias individuais para 36 vacas) e (2) densidade animal de 150% (24 baias individuais para 36 vacas). O período experimental foi de 19 dias. Observações diretas foram realizadas com intervalos de 10 minutos. Foram registrados os comportamentos de latência para se deitar após ordenha, utilização da baia individual, defecação na posição deitada, deslocamentos da baia individual concluído com sucesso e não concluído e posição da vaca a ser deslocada. Os dados foram analisados pelo teste-T ou teste de Wilcoxon. As vacas apresentaram mais defecação deitada ($0,7 \pm 1,05$ versus $0,5 \pm 0,9$, P -valor = 0,0103), eventos de repouso deitado ($69,6 \pm 12,1$ versus $62,3 \pm 12,8$, P -valor <0,0001) e eventos em pé com as patas anteriores sobre a cama ($9,5 \pm 8,3$ versus $6,7 \pm 6,8$, P -valor = 0,0001) no tratamento controle, do que em alta densidade. Os tratamentos não influenciaram os deslocamentos. A defecação deitada diminuiu com o aumento do número de vezes que a vaca foi deslocada, em ambos os tratamentos. A alta densidade animal aumentou a utilização de baias individuais localizadas na fileira adjacente ao corredor de alimentação por duas vacas ao mesmo tempo (14 versus 32, P -valor = 0,0268). Em conclusão, a expressão do comportamento de defecar na posição deitada em vacas leiteiras manejadas foi afetada positivamente pelo comportamento de repouso deitado e pelo nível de produção de leite. Por outro lado, a utilização de alta densidade animal reduziu a expressão do comportamento de defecar na posição deitada, de repouso deitado e a permanência em pé com as duas patas anteriores sobre a cama. Vacas deslocadas mais vezes da baia individual apresentaram menos o comportamento de defecar na posição deitada.

Palavras-chave: Competição. Conforto animal. Excreção. Observação direta. Produção de leite.

MANGILLI, Livia Galiano. **The behavior of defecating in the lying position in dairy cows housed in freestall**. 2019. 77 p. Thesis (Doctor's degree in Animal Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

ABSTRACT

The abnormal behavior of defecate while lying down has been observed in dairy cows housed in freestall. Identifying and evaluating the reasons that lead them to perform this behavior may contribute to improvements in the management and freestall design, and consequently in animal comfort. This is a pioneering study that aimed investigate factors associated with the expression of lying defecation behavior in dairy cows, and to evaluate the effect of different stocking densities on this behavior, on freestall use and stall competition by the cows. Two experiments were carried out at the experimental dairy farm of the UBC. In the first experiment 272 lactating Holstein cows were used, housed in freestall. Cows had daily milk production of 38.1 ± 10.7 kg and body weight of 710.4 ± 88.9 kg (mean \pm SD). Direct observations were carried out starting at 0500, 0600, 0700 and 0800 h on days 1, 2, 3 and 4, respectively, and followed every four hours throughout the day, totalizing five observations per day. This four-day observation schedule was performed three times. Lying behavior and lying defecation behavior were recorded. A total of 243 lying defecations events and 6158 lying events were observed. The predictor variables were tested using logistic regression with stepwise selection. Lying defecation events was positively affected by lying events and milk yield. For each additional unit in the number of lying events and in milk yield the odds ratio for lying defecation increased by 0.04 and 2.7 ($P < 0.0202$ and $P < 0.0300$), respectively. In the second experiment 144 lactating cows were used, randomly distributed in four groups of 36 cows. The groups were randomly assigned to treatments in a crossover experimental design: (1) 100% of stocking density (36 stalls for 36 cows) and (2) 150% of stocking density (24 stalls for 36 cows). The experimental period was 19 days. Direct observations were performed with intervals of 10 minutes. Latency to lie down after milking, stall use, lying defecation behavior, successful and unsuccessful displacement of stall and position of the cow to be displaced. The data were analyzed by t-test or Wilcoxon test. Cows had more lying defecation (0.7 ± 1.05 versus 0.5 ± 0.9 , P -value = 0.0103), lying (69.6 ± 12.1 versus 62.3 ± 12.8 , P -value < 0.0001) and perching (9.5 ± 8.3 versus 6.7 ± 6.8 , P -value = 0.0001) events when housed in the control treatment then overstocked. The stocking density treatments did not influence displacements. Lying defecation decreased as increasing the times a cow was displaced, in both treatments. Overstocking density increased the use of stalls located at the row adjacent to the feeding alley by two cows at the same time (14 versus 32, P -value = 0.0268). In conclusion, the expression of the lying defecation behavior in dairy cows housed was positively affected by lying behavior and milk yield. On the other hand, the use of overstocking reduced the expression of lying defecation behavior, lying and perching behavior. Cows displaced more often from the stall had less lying defecation.

Keywords: Animal comfort. Competition. Direct observation. Excretion. Milk production.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Revisão de Literatura

- Figura 1** - Três áreas sobrepostas de preocupação com o bem-estar animal..... 16
- Figura 2** - Exemplo de design do confinamento *freestall*..... 18

Artigo A

- Figura 1** - Parity frequency distribution of dairy cows housed in freestall 53
- Figura 2** - Gait score frequency distribution of dairy cows housed in freestall 53
- Figura 3** - Lying defecation of feces with loose consistency (A); lying defecation of feces with firm consistency (B); feces from standing defecation (C) 54
- Figura 4** - Lying frequency and lying defecation frequency observed in dairy cows housed in freestall 55
- Figura 5** - Milk yield and lying defecation frequency of dairy cows housed in freestall 55

Artigo B

- Figura 1** - Events of two cows sharing a stall according to the row in the pen, in two stocking density treatments 76

LISTA DE TABELAS

Artigo A

Tabela 1 - Schedule of behavioral observations	49
Tabela 2 - Summary of the predictors for lying defecation behavior in dairy cows housed in freestall	50
Tabela 3 - Pearson correlation coefficients between predictors of dairy cows housed in freestall	51
Tabela 4 - Final logistic regression model for factors associated with the expression of lying defecation behavior in dairy cows housed in freestall	52

Artigo B

Tabela 1 - Mean \pm SD for parity, days in milking, days carrying calf, milk yield and previous lying defecation frequency of the experimental groups.....	75
Tabela 2 - Effect of two stocking density treatments on behavior of dairy cows housed in freestall	76
Tabela 3 - Effect of the receiver position on the displacement result (as successful or unsuccessful) in two stocking density treatments, of dairy cows housed in freestall	77
Tabela 4 - Lying defecation and lying behaviors of dairy cows housed in freestall according to their role in the displacements (actors and receivers cows).....	78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BW	Body Weight
DCC	Days Carrying Calf
DIM	Days In Milking
DM	Dry Matter
LD	Lying Defecation
MY	Milk Yield
SE	Standard Error
SD	Standard Deviation
TMR	Total Mixed Ration

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	BEM-ESTAR ANIMAL.....	14
2.1.1	A Ciência do Bem-estar Animal.....	14
2.2	BEM-ESTAR DE VACAS NO SISTEMA <i>FREESTALL</i>	17
2.3	INDICADORES DE BEM-ESTAR PARA VACAS LEITEIRAS CONFINADAS.....	20
2.3.1	Comportamento de Repouso na Posição Deitada.....	20
2.3.2	Escore de Locomoção.....	21
2.3.3	Hierarquia Social	23
2.3.3.1	Densidade animal.....	24
2.4	COMPORTAMENTO DE DEFECÇÃO.....	26
2.5	CONSIDERAÇÕES.....	28
	REFERÊNCIAS	30
3	OBJETIVOS	34
3.1	OBJETIVO GERAL.....	34
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICO.....	34
4	ARTIGO A – VACAS LEITEIRAS NO FREESTALL E O COMPORTAMENTO DE DEFECAR NA POSIÇÃO DEITADA	35
5	ARTIGO B – EFEITOS DA DENSIDADE ANIMAL NO COMPORTAMENTO DE DEFECAR NA POSIÇÃO DEITADA EM VACAS LEITEIRAS NO <i>FREESTALL</i>	56
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	77

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, o sistema *freestall* é o tipo de confinamento para vacas leiteiras mais difundido no Brasil e em outros países. Este modelo de confinamento foi desenvolvido para facilitar e tornar mais prático o manejo de vacas leiteiras confinadas, reduzindo a quantidade de mão de obra e de substrato de cama necessários. O *freestall*, composto por seu *design* característico e seu gerenciamento, influencia no conforto, higiene e saúde das vacas (BICKERT et al., 2000). Portanto, a forma como as vacas o utilizam, expressada por diversos comportamentos, pode indicar a eficiência de manejo quanto ao sistema produtivo e bem-estar animal.

Avaliações comportamentais do animal têm valor relevante na avaliação do seu bem-estar, como comportamentos anormais, que podem indicar que o animal está em baixo grau de bem-estar (BROOM; MOLENTO, 2004). Nos sistemas de produção de leite, o *freestall* é um elemento vital no ambiente da vaca, pois suas características e seu manejo influenciam no seu conforto, higiene e saúde, e conseqüentemente no seu bem-estar (BICKERT et al., 2000).

Repousar em decúbito, esternal ou lateral, é um comportamento essencial para o conforto de vacas leiteiras (MUNKSGAARD et al., 2005). O comportamento de repouso deitado das vacas pode ser influenciado por fatores intrínsecos e extrínsecos ao animal, por exemplo, sua classificação na hierarquia do grupo e seu estado de saúde (GALINDO; BROOM, 2000; FREGONESI; LEAVER, 2001).

A interação competitiva é um comportamento natural entre vacas leiteiras, podendo ocorrer de diversas formas. Porém, quando este comportamento é aumentado por tempo prolongado se torna indesejado nos sistemas produtivos por privar vacas subordinadas de elementos vitais, como alimento e área para descanso (VAL-LAILLET, VEIRA e VON KEYSERLINGK, 2008). O *design* do *freestall* e principalmente seu manejo podem contribuir na alteração da interação competitiva entre vacas leiteiras confinadas (VON KEYSERLINGK et al., 2009). Com o aumento da densidade animal a disponibilidade de recursos diminui, como baias individuais no *freestall*, e a competição aumenta com tentativas de deslocamento e deslocamentos efetivos. Além disso, a maior densidade de animais pode reduzir o tempo de repouso deitado (FREGONESI, TUCKER e WEARY, 2007B; KRAWCZEL et al., 2012b; TELEZHENKO et al., 2012; TELEBI et al., 2014; WINCKLER, TUCKER e WEARY, 2015), alterando a rotina de comportamentos essenciais para a manutenção da saúde e do bem-estar de vacas leiteiras (WINCKLER, TUCKER e WEARY, 2015).

A excreção é uma necessidade fisiológica animal expressa por comportamentos naturais de defecação e urinação. O comportamento de defecação em vacas leiteiras vem sendo estudado nos diferentes sistemas produtivos (ALAND; LIDFORSB; EKESBO, 2002; WHISTANCE et al., 2007; ROBICHAUD et al., 2011; WHISTANCE et al., 2011), a fim de melhorar o conforto animal e a eficiência do manejo de dejetos em sistemas de confinamento.

Vacas leiteiras mantidas em pastagem demonstraram predominantemente o comportamento de evitar o contato corporal com fezes frescas. Deitar sobre o pasto recém-pastejado e defecar após levantar podem ser interpretados como evidência de latrinas para o controle de doenças pelas próprias vacas (WHISTANCE et al., 2011). Vacas confinadas em sistema *freestall* tendem a defecar principalmente em pé no corredor de alimentação, enquanto estão se alimentando (ROBICHAUD et al., 2011). Porém, pesquisas revelaram que 4,7 e 8,2% (dois experimentos distintos) das defecações ocorreram com as vacas na posição deitada na baia individual (ROBICHAUD et al., 2011). Tucker, Weary e Fraser (2005) relataram 1,1 e 1,2 / 24h defecações na posição deitada de vacas em *freestall* com e sem barra de pescoço, respectivamente. Fregonesi et al. (2009) observaram que $55 \pm 28\%$ (média \pm DP) dos eventos de defecação nas baias individuais ocorreram na posição deitada, com uma variação de 0 a 93%.

No entanto, até os dias atuais não foram publicadas pesquisas que avaliaram diretamente os fatores que podem estar relacionados com o comportamento de defecar na posição deitada em vacas leiteiras confinadas em sistema *freestall*. A compreensão dos fatores que podem contribuir para a expressão desse comportamento pode permitir a melhora no *design* do sistema *freestall*, o manejo, o conforto e a saúde dos animais, ou mesmo a criação de novos sistemas de produção.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 BEM-ESTAR ANIMAL

2.1.1 A Ciência do Bem-estar Animal

A ciência "bem-estar animal" teve início devido às preocupações éticas da sociedade com a qualidade de vida dos animais, principalmente animais de produção, e devido à busca de informações a partir do público em geral. Este fato foi descrito no livro "*Animal Machines*" publicado na década de sessenta pela autora inglesa Ruth Harrison. Após a publicação do livro, surgiram na sociedade três preocupações éticas comuns, em relação à qualidade de vida dos animais: 1) devem expressar os comportamentos naturais da sua espécie com suas adaptações e capacidades naturais (BRAMBELL, 1965; FRASER et al., 1997); 2) devem sentir-se bem, sendo livres de medo intenso e prolongado, de dor e de outros estados afetivos negativos, e experimentar prazeres normais à sua espécie e outros estados afetivos positivos (DAWKINS, 1990; WEARY; FRASER, 1995; FRASER, 2009); e 3) devem ter bom funcionamento biológico, ou seja, saúde satisfatória, além de crescimento e funcionamento dos sistemas fisiológicos e comportamentais adequados (ADAMS; CRAIG, 1985; MENDEL, 1991; TAUSON, 1998; FRASER, 2009). Portanto, bem-estar animal não é um fenômeno único e deve ser definido como um "conceito conglomerado" abrangendo os três conceitos e seus respectivos indicadores (FRASER, 2008).

Um dos critérios essenciais para o conceito de bem-estar animal é que este deve referir-se ao animal individual, e não a algo proporcionado pelo homem ao animal (BROOM; MOLENTO, 2004). As preocupações da sociedade com o bem-estar de animais sencientes, aqueles que têm capacidade de sentir sensações e sentimentos de forma consciente, deve ser determinada por seu respeito ao valor intrínseco da vida animal, independentemente do seu valor extrínseco para a sociedade (WEBSTER, 2001).

Um dos primeiros princípios de bem-estar animal foi criado no Reino Unido, nomeado como "Cinco Liberdades" (*Five Freedoms*), e compõe a filosofia básica do Farm Animal Welfare Council (1993). As Cinco Liberdades foram estabelecidas com base no reconhecimento e compreensão de boa criação dos animais, seja na fazenda, no transporte ou no local de abate. As Cinco Liberdades abordam tanto a aptidão física quanto a condição mental dos animais, podendo ser utilizadas como um *checklist* prático e abrangente para avaliar os pontos fortes e fracos dos sistemas de criação. São elas: 1) estar livre de sede, fome

e desnutrição; 2) estar livre de desconforto; 3) estar livre de dor, lesão e doença; 4) estar livre para expressar seus comportamentos naturais; e 5) estar livre de medo e angústia. De acordo com as Cinco Liberdades, os animais não estão livres de todo e qualquer tipo de estresse sempre, porém todo e qualquer tipo de sofrimento deve ser evitado.

As implicações mais preocupantes são as que podem estar diretamente relacionadas aos sistemas produtivos, que podem incluir: fome ou doença metabólica aguda; desconforto crônico por instalações inadequadas; dor crônica ou movimento restrito devido à distorção de forma ou função do corpo; doença crônica; ansiedade ou frustração crônica; exaustão metabólica ou física. Portanto, há ainda um importante item não incluído nas Cinco Liberdades, o esgotamento: animais designados a continuar produzindo mesmo quando fisicamente desgastados. O bem-estar de um animal senciente é bom quando o mesmo pode ter boa forma física e evitar sofrimentos. Boa forma física implica estar livre de doenças, lesões e incapacidade. Evitar sofrimentos refere-se à saúde mental (WEBSTER, 2001).

De acordo com Rushen (2003), o conceito de bem-estar animal utilizado pelos pesquisadores em suas pesquisas muitas vezes são limitados e não abordam todas as questões de interesse público. Como exemplo, têm-se os conceitos de bem-estar animal que minimizam o tópico de sofrimento. Alguns conceitos não possuem referência aos sentimentos e emoções. Muitas pesquisas têm focado em questões mais facilmente tratadas por meio da investigação científica, como exemplo, ameaças ao bom funcionamento biológico. Porém, esta atitude ignora os avanços realizados por outros pesquisadores sobre a consciência animal. Estudos etológicos aplicados à motivação, cognição e complexidade do comportamento social em animais resultaram no rápido desenvolvimento da ciência do bem-estar animal (BROOM, 2011).

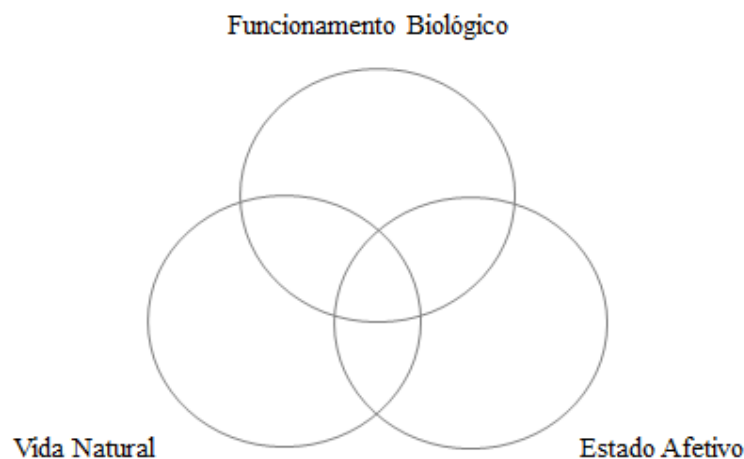
Bem-estar está relacionado a todos os mecanismos no organismo animal: fisiológicos, comportamentais, imunológicos, emocionais e outros, que são coordenados a partir do cérebro. Saúde refere-se ao estado dos sistemas do corpo animal e pode ser definida como o estado de um animal em relação às suas tentativas de lidar com a patologia. Portanto, bem-estar é um termo mais amplo que a saúde, mas a saúde é uma parte importante do bem-estar. O bem-estar por períodos longos é referido como qualidade de vida (BROOM, 2007). Por outro lado, a palavra “estresse” é utilizada para o baixo grau de bem-estar quando há falha animal em enfrentar algo ou determinada situação. O estresse pode ser definido como efeito ambiental sobre um indivíduo que sobrecarrega seus sistemas e reduz sua aptidão física.

Contudo, bem-estar animal é um conceito científico que descreve uma qualidade potencialmente mensurável de um animal vivo em um determinado momento. O

que os homens fazem em relação a isso, ou deveriam fazer, é uma questão ética e é comumente chamado de proteção animal (BROOM, 2011).

As três áreas de preocupação com o bem-estar animal (FRASER et al., 1997) podem ser abordadas de maneira sobreposta (Figura 1) pela ciência. Por exemplo, uma vaca incapaz de procurar sombra em um dia quente (vida natural) possivelmente se sente desconfortável (estado afetivo) e sofrer estresse térmico, o que afeta negativamente sua produção de leite (funcionamento biológico). Desta forma, as três preocupações podem orientar pesquisadores para identificação de problemas bem como para solucionar diferentes questões de bem-estar animal (VON KEYSERLINGK et al., 2009).

Figura 1. Três áreas sobrepostas de preocupação com o bem-estar animal.



Fonte: Adaptado de von Keyserlingk et al. (2009).

Eventualmente, a pressão política para obter respostas urgentes sobre questões legislativas pode ter sido responsável pela negligência com as dificuldades relacionadas ao bem-estar animal. Assim, as pesquisas aplicadas superaram os conhecimentos básicos, principalmente sobre comportamento animal, fisiologia do estresse e imunologia. Como consequência, indicadores de bem-estar animal não são adequadamente validados. Além disso, abordagens utilizadas para compreender questões relacionadas ao bem-estar animal foram baseadas em uma visão muito simples do que é o bem-estar animal (WEBSTER, 2001; RUSHEN, 2003).

De acordo com Webster (2001), não somente cientistas, mas todos que se interessam diretamente por animais têm a responsabilidade de promover seu bem-estar,

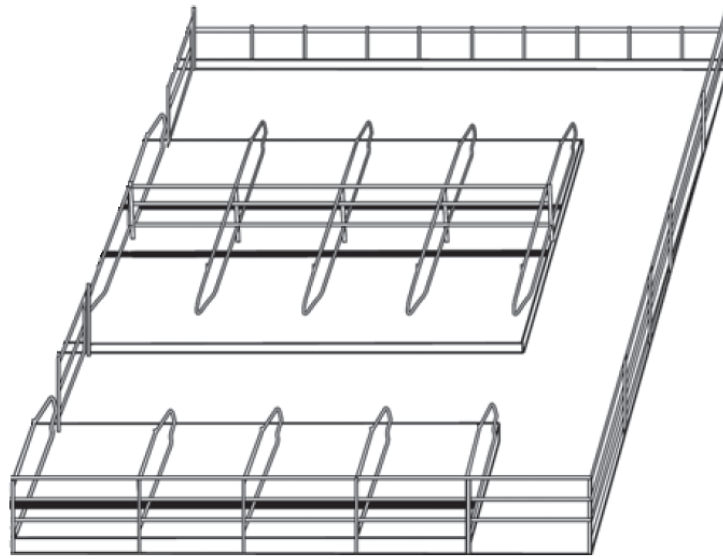
incluindo obviamente produtores e profissionais envolvidos. Consumidores de produtos de origem animal também têm suas responsabilidades, e até mesmo os que não consomem. O ato de utilizar produtos fabricados com couro, mas não consumir carne, pode reduzir o número de animais abatidos, porém esta decisão não exercerá nenhum benefício direto sobre o bem-estar dos animais vivos. Na realidade esta situação pode acarretar em baixo investimento no bem-estar dos animais, uma vez que o valor disponível por animal que o produtor recebe é reduzido.

Nos últimos anos, grande parte da pesquisa científica tem sido focada na segurança alimentar, conservação ambiental e bem-estar animal. Estes termos não podem ser considerados como descritivos, considerando que incorporam noções do que é melhor ou pior, mas sim como conceitos avaliativos. Quando cientistas investigam conceitos avaliativos, princípios de preferência os orientam sobre quais variáveis estudar e como ponderar as evidências. Isso não significa que conceitos avaliativos são questões de opinião, e sim que a ciência é altamente relevante na compreensão desses conceitos. Assim, o bem-estar animal e outros conceitos são baseados tanto na ciência quanto nos princípios (FRASER, 2008).

2.2 BEM-ESTAR DE VACAS NO SISTEMA *FREESTALL*

O sistema *freestall* (Figura 2) foi criado para facilitar e tornar mais prático o manejo de vacas leiteiras confinadas, reduzindo a necessidade de mão de obra e a quantidade de substrato de cama utilizada. O *freestall* é um elemento vital no ambiente da vaca, pois suas características e seu manejo influenciam no seu conforto, higiene e saúde. A forma como as vacas utilizam este sistema também é importante. Por exemplo, ao observar vacas em pé nos corredores com maior frequência do que em repouso deitado nas baias individuais, provavelmente existe uma deficiência na instalação, seja esta relacionada ao seu tamanho ou manejo. Portanto, periodicamente deve ser observado o comportamento das vacas confinadas no *freestall* (BICKERT et al., 2000).

Figura 2. Exemplo de design do confinamento *freestall*.



Fonte: Adaptado de Abade et al. (2015).

Vacas leiteiras podem apresentar preferências, e mudam seu comportamento de acordo com as características do sistema produtivo e o manejo utilizado. Portanto, a manutenção adequada do *freestall* tem essencial importância para o conforto e bem-estar dos animais. Friend e Polan, (1974) reportaram a preferência de vacas leiteiras por baias individuais com localização específica na baia do *freestall*, sendo que vacas classificadas como dominantes tenderam a utilizar baias individuais adjacentes e vacas subordinadas evitaram utilizar baias individuais anteriormente ocupadas por vacas dominantes. A classificação social demonstrou ser determinante na localização das vacas nas baias individuais, nomeado pelos autores como territorialidade.

Keys, Smith e Weinland (1976) observaram diferença na utilização de baias individuais quanto à localização dentro da baia do *freestall*. Uma das fileiras de baias foi menos utilizada e os autores atribuíram esta diferença à sua distância até o cocho, bebedouro e outros lotes de animais. Além disso, a corrente de ar na fileira menos utilizada pode ter sido prejudicada durante o período experimental devido ao fechamento de uma das portas do corredor central do galpão, que normalmente é mantida aberta, a fim de proteger as câmeras de vídeo da luminosidade que poderia prejudicar as gravações. Os autores também observaram interação entre o peso corporal das vacas e a utilização de baias individuais de acordo com a localização na baia, em diferentes estações climáticas. Estas pesquisas demonstram a importância da adequação do sistema *freestall* em relação ao conforto térmico e estabilidade social nos lotes, que podem ser melhorados pelo manejo.

Cada baia individual do *freestall* possui elementos que orientam sua utilização pelas vacas. As divisórias entre elas limitam o espaço de repouso deitado para cada vaca, assim como o parapeito que fica posicionado à frente. As baias individuais devem ter largura suficiente para as vacas se deitarem confortavelmente, porém devem ser estreitas o suficiente para impedir que as vacas se virem. O comprimento deve ser adequado ao tamanho das vacas, permitindo que as mesmas permaneçam deitadas confortavelmente. Porém, as baias individuais devem ser curtas o suficiente para que as excretas caiam no corredor de passagem. A configuração das divisórias deve permitir o comportamento natural de se deitar e levantar das vacas, de modo que ao realizar estes movimentos elas não se esbarrem nessas divisórias, evitando assim ferimentos. Portanto, as funções das divisórias no *freestall* são: delinear o espaço de repouso deitado para cada vaca, permitir às vacas os comportamentos de se deitar, levantar e permanecer em repouso deitado confortavelmente (BICKERT et al., 2000).

As medidas do *freestall* devem ser adequadas ao tamanho padrão dos animais. Restrição de espaço na baia individual pode reduzir o tempo de repouso deitado prejudicando o conforto de vacas leiteiras, e assim sua produção (TUCKER, WEARY e FRASER, 2004; FREGONESI et al., 2009).

A barra do pescoço é um componente-chave na configuração do *freestall*. Seu posicionamento influencia a utilização das baias individuais pelas vacas, podendo apresentar consequências relevantes ao bem-estar animal e ao produtor. Quando posicionado mais distante da mureta permite às vacas permanecerem mais tempo em pé com as quatro patas sobre a cama, o que é benéfico para a saúde dos cascos, porém reduz a limpeza da cama e conseqüentemente a do úbere. Quando posicionado de forma mais restritiva, ou seja, mais próxima da mureta, mantém a limpeza da cama e conseqüente limpeza do úbere, porém pode prejudicar a saúde do casco ao induzir as vacas permanecerem em pé com os membros posteriores sobre a superfície de concreto com excretas. Em resumo, o produtor deve considerar a variação no tamanho das vacas e a padronização de lotes previamente a tomada de decisão quanto ao posicionamento da barra do pescoço (BERNARDI et al., 2009; FREGONESI et al., 2009).

Drissler et al. (2005) avaliaram a profundidade da cama e constataram redução da quantidade de substrato na cama com o passar do tempo, sendo que no dia seguinte à adição de areia esta redução é mais acentuada. A redução da quantidade de areia torna a superfície da cama côncava, com a parte mais profunda no centro. Estas alterações nas características da cama profunda, sem base de concreto, afetam o período de repouso deitado

das vacas, sendo este reduzido em camas com maior profundidade. Segundo os autores, a cada redução de um cm de substrato na cama, houve redução de 11 min de repouso deitado, durante 24 horas. É importante destacar que a utilização de pouco substrato ou perda substancial do substrato na cama, além de prejudicar o conforto animal pode resultar em lesões nos animais, devido ao contato com a superfície de concreto. Portanto, recomenda-se cama de alta profundidade (20 cm ou mais), o que requer mais substrato. Todo o manejo e manutenção realizados para melhorias no sistema de confinamento refletem no conforto animal, preservando sua saúde e bem-estar.

O *freestall* deve fornecer baias individuais de descanso, com camas limpas, secas e confortáveis. As vacas devem ter acesso livre para entrar e sair das baias individuais com facilidade, deitar-se e levantar-se sem interferências. A instalação deve ser mantida em condições apropriadas para que as vacas, ao utilizá-la, obtenham os potenciais benefícios. Ausência de manutenção do *freestall* ou manejo inadequado pode induzir as vacas a deitarem nos corredores sobre as excretas úmidas, o que aumenta a contaminação e a incidência de mastite ambiental (BICKERT et al., 2000).

2.3 INDICADORES DE BEM-ESTAR PARA VACAS LEITEIRAS CONFINADAS

2.3.1 Comportamento de Repouso na Posição Deitada

Repousar em decúbito esternal ou lateral é um comportamento essencial para o conforto de vacas leiteiras. Vacas podem demonstrar maior prioridade para o comportamento de repouso deitado em comparação à alimentação e ao contato social com outras vacas (MUNKSGAARD et al., 2005). Vacas em lactação podem despender o período de oito a dezesseis horas por dia deitadas, dividido em pequenos repousos (TUCKER; WEARY; FRASER, 2005). O comportamento de repouso deitado pode ser influenciado por fatores intrínsecos e extrínsecos às vacas, por exemplo, a classificação hierárquica do grupo e o estado de saúde (GALINDO; BROOM, 2000; FREGONESI; LEAVER, 2001). Portanto, o tempo que as vacas passam repousando, bem como a frequência com que se deitam, podem ser utilizados como indicadores para avaliar o manejo do sistema produtivo.

Características inerentes ao sistema *freestall*, como instalações e manejo, afetam diretamente o tempo total de repouso deitado e o número de vezes que vacas leiteiras repousam por dia. Pesquisas mostraram que o tempo total que as vacas despendem em repouso deitado aumentou em baias individuais com camas profundas, o que significa maior

quantidade de substrato na cama. Porém, diminuiu com a menor disponibilidade de baias individuais, ou seja, quanto maior a densidade animal (número de animais/número de camas individuais), menor o tempo médio de repouso deitado (ITO et al., 2014). A qualidade do substrato da cama também influencia este comportamento. Vacas preferem baias individuais com camas de superfície seca, e passam maior tempo em pé nos corredores quando somente baias individuais com camas de superfície úmida estão disponíveis, sugerindo assim a importância do manejo da cama para o bem-estar de vacas leiteiras (FREGONESI et al., 2007a).

Tucker, Weary e Fraser (2004) avaliaram o tamanho das baias individuais do *freestall* e relataram maior período de repouso deitado (10,8 *versus* 9,6 ± 0,3 h/24h) e menor período em pé com as duas patas anteriores sobre a cama (58 *versus* 85 min/24h), em baias individuais mais largas (126 cm) do que mais estreitas (106 cm). Porém, as baias individuais maiores foram mais propensas a conter excretas, o que aumenta a exposição dos tetos a bactérias e pode levar ao aumento na incidência de mastite clínica. Sendo assim, o manejo de limpeza das camas deve ser adequado, substituindo o substrato com maior frequência, a fim de preservar o conforto e a saúde animal.

Em relação aos fatores intrínsecos, Ito et al. (2014) relataram menor número de repousos na posição deitada, porém períodos mais longos, para vacas com claudicação, o qual foi correlacionado com o percentual de baias individuais cuja superfície da cama estava contaminada com fezes. Portanto, mensurações automatizadas do comportamento de repouso deitado, como tempo total e frequência, podem contribuir para a detecção de claudicação (SOLANO et al., 2016).

Contudo, o tempo de repouso deitado de vacas leiteiras deve ser sempre interpretado em conjunto com outros fatores do rebanho e sistema produtivo, como frequência destes repouso, prevalência de claudicação, parâmetros produtivos e características das instalações.

2.3.2 Escore de Locomoção

Lesões de casco, que resultam em claudicação, são atualmente reconhecidas como um dos mais sérios problemas de bem-estar e produção na indústria leiteira. As causas são multifatoriais, vindas da inadequação de manejos como: seleção genética, manejo nutricional, manejo sanitário, casqueamento, densidade animal e manutenção da instalação.

Galindo e Broom (2000), ao avaliarem a relação entre comportamento e ocorrência de claudicação em vacas leiteiras, relataram que vacas com maior grau de claudicação despenderam mais tempo em pé com as patas anteriores sobre a cama. Esta posição, como visto anteriormente, pode ser consequência do manejo deficiente do material de cama (FREGONESI et al., 2007a), ou ainda do posicionamento restrito da barra de pescoço nas baias individuais (BERNARDI et al., 2009).

O escore de locomoção é uma ferramenta difundida mundialmente, utilizada por produtores e profissionais para monitorar doenças de casco. A classificação numérica do escore de locomoção possibilita avaliar subjetivamente a condição dos cascos de vacas leiteiras, dentre outros animais. Para isso, as vacas devem ser pontuadas em escala numérica de um a cinco, em que: 1) movimento de locomoção suave e fluido; 2) locomoção imperfeita, mas a capacidade de se mover livremente não está reduzida; 3) capaz de se locomover, mas capacidade de se mover livremente está comprometida; 4) capacidade de se locomover livremente está claramente reduzida; 5) capacidade de se locomover está severamente restrita de maneira que a vaca necessita ser vigorosamente encorajada para se mover (FLOWER; WEARY, 2006).

Para realizar a classificação, as vacas devem ser observadas direta ou indiretamente (por vídeos) caminhando, sendo avaliados seis atributos: arqueamento da coluna, posição e movimentação da cabeça, sequência dos passos, flexão das articulações, simetria dos passos e capacidade de suportar o peso do corpo nos membros (FLOWER; WEARY, 2006). Segundo Flower e Weary (2006), que avaliaram a eficácia desta medida, o escore de locomoção permite discriminar de forma efetiva vacas saudáveis daquelas com lesões no casco, sendo um método confiável para identificação dos animais que apresentam claudicação.

Segundo Cutler et al. (2017), que realizaram sua pesquisa com a aplicação de questionários no Canadá, os produtores de leite estão cientes da claudicação como um problema nos rebanhos leiteiros e quase todos a monitoram em sua rotina diária. No entanto, a prevalência de claudicações é subestimada. Estes dados indicam a necessidade da realização de treinamentos, a fim de tornar eficientes tanto o método de monitoramento de doenças de casco quanto à identificação de fatores de risco específicos na propriedade e estratégia de tratamento.

No Brasil, Costa et al. (2018) verificaram alta prevalência de claudicação na região sul do Paraná. No entanto, a prevalência foi menor em propriedades com confinamento tipo *compost barn* (14,2%) do que em propriedades com *freestall* (22,2%) e com ambos os

tipos de confinamento (22.2%). Os autores também observaram menor prevalência de lesões nos joelhos e jarretes nas propriedades com *compost barn* do que naquelas com *freestall* e com ambos os sistemas, destacando a necessidade de melhorias nas práticas de manejo. Melhorar o manejo de vacas multíparas, vacas com escore de condição corporal baixo e vacas já acometidas pela doença, pode reduzir a prevalência de claudicação no rebanho. Do mesmo modo, adotar práticas de manejo que melhoram o conforto da vaca, como a manutenção e limpeza do piso e do substrato da cama, pode prevenir a ocorrência de novos casos (SOLANO et al., 2015).

2.3.3 Hierarquia Social

A interação competitiva entre vacas leiteiras por diferentes recursos é um comportamento natural importante. Porém, a intensificação deste comportamento é indesejável nos sistemas produtivos, de modo que o *design* do *freestall* e seu manejo podem influenciar sua ocorrência (VON KEYSERLINGK et al., 2009).

Vacas leiteiras competem em diferentes níveis por recursos diferentes, em que o sucesso competitivo pode variar de acordo com a motivação individual para acessar o recurso em questão. O acesso ao alimento, por exemplo, é uma fonte de competitividade relevante entre vacas leiteiras confinadas. Isto ocorre devido à alta demanda por nutrientes necessários para a produção de leite, combinada com a densidade animal e o espaço do cocho que pode estar inadequado para todas as vacas se alimentarem ao mesmo tempo no momento de fornecimento do alimento fresco. Segundo Val-Laillet, Veira e von Keyserlingk (2008), a intensidade da competição por diferentes recursos no sistema *freestall* não está relacionada ao tempo despendido em um recurso específico, mas sim à motivação e pressão social presente para o acesso a este recurso. A competição por alimento foi a principal fonte de interações agressivas entre vacas leiteiras.

Vacas primíparas são mais propensas a sofrerem as consequências de um ambiente competitivo. Além de experienciar as mudanças fisiológicas e afetivas do primeiro parto, vacas primíparas necessitam se adaptar ao novo grupo e competir por espaço no cocho e baia individuais com vacas multíparas, o que as levam a apresentar aumento do tempo despendido em pé. Por outro lado, vacas multíparas podem apresentar maior índice de deslocamento, o qual consiste em deslocar outras vacas de um recurso (neste caso a baia individual) para utilizá-lo, do que vacas primíparas ($0,59 \pm 0,23$, e $0,43 \pm 0,16$, respectivamente). Sendo que este índice é calculado como número de indivíduos que a vaca é

capaz de deslocar / (número indivíduos que a vaca é capaz de deslocar + número de vacas capazes de deslocá-la) (GONZÁLEZ; YABUTA; GALINDO, 2003). Portanto, o manejo adotado para vacas primíparas deve considerar também o ambiente social, podendo diminuir o estresse e outros problemas de conforto e bem-estar.

A hierarquia de vacas leiteiras em sistema de pastagem pode estar relacionada ao peso corporal, número de lactações, ambos positivamente, e com o tempo de pastejo, negativamente. Por exemplo, vacas classificadas como dominantes em um determinado grupo podem apresentar maior peso corporal e número de lactações, porém menor tempo pastejando. No entanto, de acordo com Philips e Rind (2002), vacas dominantes tiveram maior produção de leite do que vacas subordinadas, o que pode estar relacionado à taxa de pastejo mais rápida (PHILIPS; RIND, 2002).

No sistema *freestall*, vacas subordinadas tendem a apresentar menor tempo de repouso deitado e maior tempo em pé, tanto nos corredores quanto na baia individual (ambos com as quatro patas ou somente as duas patas anteriores sobre a cama) do que vacas dominantes (GALINDO; BROOM, 2000). Sendo assim, vacas subordinadas podem sofrer maior ocorrência de lesões de casco devido ao maior tempo em pé sobre o piso úmido e com excretas. Portanto, além do ambiente social, deve ser dada atenção ao manejo do sistema produtivo, principalmente qualidade do piso e do substrato da cama; bem como à disponibilidade de baias individuais por vaca, utilizando-se uma relação baia/vaca para que todas as vacas tenham ocasionalmente acesso à baia individual ao mesmo tempo.

2.3.3.1 Densidade animal

Bovinos confinados ou não são frequentemente reagrupados. Isto ocorre devido a diversos procedimentos zootécnicos, como por exemplo, durante a secagem (interrupção da produção de leite) no final da lactação, após o parto quando entram em lactação, para equilibrar os lotes de acordo com a média de produção ou também após o tratamento de infecções intramamárias e claudicações quando são separadas do rebanho. Esta prática envolve o agrupamento de vacas não familiarizadas na mesma baia, o que afeta o ambiente social do grupo, e pode alterar a densidade animal após o reagrupamento. O aumento na densidade animal é utilizado, em alguns casos, para reduzir os custos de construção de novas instalações, quando o crescimento do rebanho não é acompanhado pela expansão dos galpões ou disponibilidade de pastagens. Portanto, esses procedimentos podem afetar o bem-estar de vacas leiteiras (WINCKLER; TUCKER; WEARY, 2015).

Diversas pesquisas foram realizadas a fim de conhecer como a densidade animal afeta o comportamento de vacas leiteiras em sistema *freestall*. Fregonesi, Tucker e Weary (2007b) constataram que o aumento da densidade animal diminui o tempo de repouso deitado de vacas leiteiras. Além disso, este manejo aumenta a competição direta e indireta por baias individuais. A competição direta é o deslocamento, ou seja, uma vaca desloca outra de um determinado recurso. A competição indireta ocorre quando as vacas alteram sua própria rotina a fim de obter um determinado recurso, como por exemplo, se deitam mais cedo após o retorno da ordenha.

Krawczel et al. (2012a) avaliaram 3 métodos para aumentar experimentalmente a densidade animal em sistema *freestall*: 1) proibir o acesso às baias individuais e cochos com barreiras físicas - como correntes (FREGONESI; TUCKER; WEARY, 2007b); 2) proibir o acesso às baias individuais, cocho e espaço na baia com barreiras físicas; 3) adicionar vacas ao grupo mantendo a quantidade de baias individuais, espaço no cocho e espaço na baia (sendo este o mais semelhante ao que ocorre nas propriedades comerciais). Segundo os autores, os três métodos foram bioequivalentes em relação a respostas comportamentais, consumo de alimento e higiene, indicando a utilização do método 1 em pesquisas futuras, a fim de evitar alterações na hierarquia social dentro do grupo. Krawczel et al. (2012b) observaram menor tempo de repouso deitado de vacas leiteiras mantidas em densidade animal 131 e 142%, em relação a 100 ou 113% (número de vacas / número de baias individuais *100), e os deslocamentos e interações agressivas aumentaram linearmente entre os tratamentos. Similarmente, Telezhenko et al. (2012) e Telebi et al. (2014) verificaram redução no tempo de repouso deitado em vacas leiteiras mantidas em *freestall* com o aumento da densidade animal, sendo aplicadas as densidades de 25 e 100%; e 25, 50 e 100%, respectivamente.

Diferentemente, Wang et al. (2016) observaram tempo de repouso deitado menor no tratamento 100% em comparação a 82 e 129% durante o período de pico (23h00 a 04h00 – determinado com base no padrão de repouso deitado no período de 24h). Os índices de utilização das baias individuais (SUI – *Stall Use Index*) e de conforto das vacas (CCI – *Cow Comfort Index*) foram maiores no tratamento 129% *versus* 100% durante o período de pico; em que $SUI = \text{número de vacas deitadas} / (\text{todas as vacas na baia} - \text{vacas se alimentando})$, e $CCI = \text{número de vacas deitadas} / \text{número de vacas em contato com uma baia individual}$. Em relação ao consumo de alimentos, o tempo de alimentação foi menor no tratamento 129% *versus* 82% durante o período de pico (06h00 a 08h00 - determinado com base no padrão de alimentação no período de 24h). Segundo os autores, a baixa densidade

animal contribui para vacas realizarem seus comportamentos naturais, como repousar e se alimentar.

Em outro estudo com diferentes densidades (75, 100 e 150%) para vacas leiteiras em *freestall*, Winckler, Tucker e Weary (2015) descreveram maior número de deslocamentos quanto maior a densidade. Destes, 46%, 43% e 12% ocorreram quando a vaca deslocada estava deitada, em pé com as patas anteriores sobre a cama e com as quatro patas sobre a cama, respectivamente. Além disso, vacas com menos sucesso em deslocar outras das baias individuais no tratamento 150%, despenderam mais tempo em repouso deitado durante o período diurno, indicando que repousar neste período é menos preferível. Os autores também observaram menor tempo na posição em pé com as patas anteriores sobre a cama para vacas em maior densidade animal.

2.4 COMPORTAMENTO DE DEFECÇÃO

O acúmulo de fezes pode ser responsável por problemas ambientais e legais, além de colocar em risco a saúde e o bem-estar de vacas leiteiras e de produtores de leite. Portanto, diversas pesquisas são realizadas com o objetivo de compreender o comportamento de defecação das vacas e como ele está relacionado com os diferentes sistemas produtivos, tendo em vista o bem-estar do animal e do produtor.

Na pastagem, vacas geralmente avançam alguns passos para frente logo após a defecação. Caminhar durante a defecação pode ocorrer quando as vacas estão realizando outra atividade simultaneamente, como ir à busca de água ou se juntar ao rebanho. Em relação ao período de descanso, finalizar o comportamento de repouso deitado para defecar é mais comum do que se deitar após a defecação. O comportamento das vacas de defecar na posição deitada não tem sido relatado em vacas manejadas a pasto, já o comportamento de evitar a contaminação corporal com fezes frescas é comumente relatado na literatura científica. Segundo Whistance et al. (2011), deitar-se sobre o pasto recém-pastejado e defecar após se levantar pode ser evidência da existência “latrinas” para o controle de doenças. Assim, à medida que as vacas se movem para uma nova área de pastagem elas não encontram com o pasto contaminado.

Em vacas criadas no sistema *tie-stall*, Aland, Lidforsb e Ekesbo (2002) observaram média de 16,1 defecações em 24 horas. Em relação à frequência do comportamento, foram observadas mais defecações por hora nos períodos de ordenha e alimentação do que durante os períodos de repouso na posição deitada. O comportamento de

defecar na posição deitada foi raramente observado. A postura padrão para defecar foi: coluna levemente arqueada e cauda levantada; às vezes pernas traseiras mais abertas que o normal. A defecação foi observada em 95% das vacas logo após se levantar depois de um longo período de repouso deitado, sendo que cerca de 10% defecaram também durante o processo de se levantar.

Whistance et al. (2007) observaram o comportamento de defecação de vacas leiteiras confinadas e classificaram as posições pré, durante e pós-defecação em: em pé, deitada e caminhando. Em seguida, os autores classificaram estas sequências de comportamentos em: evitação intencional de contato com as fezes (vacas param um comportamento específico para defecar e afastam-se antes de retomar o mesmo comportamento pré-defecação); evitação incidental de contato com as fezes (vacas caminham enquanto defecam ou permanecem em pé com a coluna arqueada enquanto defecam e logo após caminham para se afastar das fezes, e também podem realizar uma segunda atividade simultaneamente); e não evitação de contato com as fezes. Foi relatado que vacas em *freestall* demonstraram não evitação mais vezes do que vacas em *straw-yard* (consiste em uma baia sem divisórias internas com cama de palha ou serragem, que comporta várias vacas, de acordo com seu tamanho) o que pode indicar impacto negativo do sistema de confinamento animal sobre a expressão do comportamento de defecação. Por outro lado, vacas manejadas em confinamento com baia coletiva “*straw-yard*” apresentaram um nível maior de evitação, ambos incidental e intencional. Vacas de alta produtividade e vacas mantidas em *freestall* apresentaram o comportamento de defecar na posição deitada mais vezes do que vacas de baixa produtividade e vacas mantidas em *straw-yard*, respectivamente (sequência de pré/durante/pós-defecação: deitada/deitada/deitada).

Em sistema *freestall* vacas tendem a defecar principalmente no corredor de alimentação, enquanto estão se alimentando. Para descrever o comportamento de defecação de vacas leiteiras enquanto estão nas baias individuais do *freestall*, Robichaud et al. (2011) realizaram dois experimentos. Os autores observaram que 2,3 e 4,6% das defecações ocorreram na posição em pé com as quatro patas sobre a cama; 21,5 e 13,5% quando estavam em pé com as patas anteriores sobre a cama; e 4,7 e 8,2% das defecações ocorreram na posição deitada na baia individual, nos experimentos 1 e 2, respectivamente. O estudo apresentou uma tendência de que a limpeza da vaca estar positivamente correlacionada com a frequência de defecação na posição deitada, o que seria benéfico à saúde do úbere. Opostamente ao que foi encontrado por Aland, Lidforsb e Ekesbo (2002), os eventos de excreção foram distribuídos igualmente ao longo de 24 horas, sugerindo que não é vantajoso

limpar os corredores com mais frequência em determinados períodos do dia. No entanto, similarmente ao que foi observado por Whistance et al. (2011), a frequência média de defecação ou urinação foi diferente entre as áreas da baia, sendo que alguns locais são muito utilizados para excretar em comparação com o tempo gasto neste local, o que poderia ser a formação de latrinas. Segundo os autores, as estimativas da frequência do comportamento de defecação de vacas leiteiras em *freestall* baseadas em dois dias de observação foram correlacionadas com as estimativas baseadas em cinco dias de observação, o que permite pesquisas futuras utilizarem no mínimo dois dias de observação (ROBICHAUD et al., 2011).

Tucker, Weary e Fraser (2005) observaram 1,1/24h e 1,2/24h defecações na posição deitada no sistema *freestall* com e sem barra de pescoço, respectivamente. Sabendo que a posição da barra de pescoço afeta a utilização da baia individual pela vaca, a expressão do comportamento de defecar na posição deitada também pode ser influenciada por esta característica do *freestall*. Fregonesi et al. (2009) observaram que das defecações na baia individual $55 \pm 28\%$ (média \pm DP) ocorreram na posição deitada, com uma variação de 0 a 93%. No entanto, não foram realizadas até a data pesquisas que investigaram diretamente o que pode estar relacionado com o comportamento de defecar na posição deitada em vacas leiteiras confinadas em *freestall*.

2.5 CONSIDERAÇÕES

O conforto de vacas leiteiras confinadas em *freestall* depende de uma variedade de fatores que fazem parte do seu ambiente, como visto anteriormente baseado na literatura científica. Manejos adotados pelo produtor podem afetar diretamente o comportamento animal, e podem estar relacionados com fatores intrínsecos e extrínsecos da vaca.

Assim, a partir da observação do comportamento anormal de defecar na posição deitada em vacas leiteiras em *freestall*, identificar e avaliar os motivos que as levam expressar este comportamento pode colaborar com melhorias no manejo e configuração do sistema produtivo, e conseqüentemente no conforto animal. No entanto, não foram publicadas pesquisas até o momento focadas diretamente sobre o estudo deste comportamento.

Vacas leiteiras criadas em confinamento *freestall* seguem geralmente a mesma rotina diária, porém cada vaca em um rebanho tem suas características individuais. Portanto, características produtivas intrínsecas à vaca, como nível de produção de leite, dias de lactação e dias de gestação, dentre outros, que interferem no tempo de repouso deitado,

ingestão e excreção, poderiam também influenciar a expressão do comportamento de defecar na posição deitada.

Adicionalmente, o número de baias individuais disponíveis por vaca na baia, que é um fator extrínseco da vaca, interfere sobre o tempo que ela despende repousando e a competição entre elas. Portanto, o manejo adotado pelo produtor quanto à densidade animal poderia influenciar o comportamento de defecar na posição deitada em vacas leiteiras em sistema *freestall*.

Ainda, há a hipótese de que o comportamento de defecar na posição deitada em vacas leiteiras esteja associado à dificuldade de se levantar devido a claudicações. Como visto anteriormente, a utilização de baias individuais restritivas, com a barra de pescoço posicionada mais próxima a entrada da baia individual, com o objetivo de manter a superfície da cama limpa, submete as vacas a um maior tempo em pé com as patas posteriores sobre a superfície de concreto. Este manejo pode aumentar a incidência de claudicações, e pode colaborar com a expressão de defecações na posição deitada em vacas leiteiras em sistema *freestall*.

Contudo, a identificação e compreensão dos fatores que podem contribuir para o comportamento de defecar na posição deitada em vacas leiteiras podem orientar melhorias no *design* do sistema *freestall*, na saúde e no bem-estar animal.

REFERÊNCIAS

- ABADE, C. C. et al. Dairy cow preference and usage of an alternative freestall design. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 2, p. 960-965, 2015.
- ADAMS, A. W.; CRAIG, J. V. Effect of Crowding and Cage Shape on Productivity and Profitability of Caged Layers: A Survey. **Poultry Science**, v. 64, p. 238-242, 1985.
- ALAND, A.; LIDFORS, L.; EKESBO, I. Diurnal distribution of dairy cow defecation and urination. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 78, p. 43-54, 2002.
- BERNARDI, F. et al. The stall-design paradox: Neck rails increase lameness but improve udder and stall hygiene. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 3074-3080. 2009.
- BICKERT, W. G. et al. **Dairy Freestall Housing and Equipment**. Seventh Edition. Ames: MidWest Plan Service, 2000. 152 p.
- BRAMBELL, F. W. R. **Report of the Technical Committee to Enquire into the Welfare of Animals kept under Intensive Livestock Husbandry Systems**. Londres, 1965.
- BROOM, D. M.; MOLENTO, C. F. M. Bem-estar animal: conceito e questões relacionadas – Revisão. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 2, p. 1-11, 2004.
- BROOM, D. M. Quality of life means welfare: how is it related to other concepts and assessed? **Animal Welfare**, v. 16, p. 45-53, 2007.
- BROOM, D. M. Animal welfare: concepts, study methods and indicators. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 24, n. 3, p. 306-321, 2011.
- COSTA, J. H. C. et al. Prevalence of lameness and leg lesions of lactating dairy cows housed in southern Brazil: Effects of housing systems. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 3, p. 1-11, 2018.
- CUTLER, J. H. H. et al. Producer estimates of prevalence and perceived importance of lameness in dairy herds with tiestalls, freestalls, and automated milking systems. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 1-10, 2017.
- DAWKINS, M. S. From an animal's point of view: Motivation, fitness, and animal welfare. **Behavioral and Brain Sciences**, v. 13, p. 1-61, 1990.
- DRISLER, M. et al. Freestall Maintenance: Effects on Lying Behavior of Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 2381-2387, 2005.
- FARM ANIMAL WELFARE COUNCIL. **Second Report on Priorities for Research and Development in Farm Animal Welfare**. Second Edition. Londres: DEFRA, 1993.
- FLOWER, F. C.; WEARY, D. M. Effect of Hoof Pathologies on Subjective Assessments of Dairy Cow Gait. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 1, p. 139-146, 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Sustainability Assessment of Food and Agriculture systems – SAFA Guidelines**. Version 3.0. Rome: FAO, 2013. 240 p.

FRASER, D. et al. A scientific conception of animal welfare that reflects ethical concerns. **Animal Welfare**, v. 6, p. 187-205, 1997.

FRASER, D. **Understanding animal welfare: The science in its cultural context**. Ames: Wiley-Blackwell, 2008. 336p.

FRASER, D. Animal behaviour, animal welfare and the scientific study of affect. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 118, p. 108-117, 2009.

FREGONESI, J. A.; LEAVER, J. D. Behaviour, performance and health indicators of welfare for dairy cows housed in strawyard or cubicle systems. **Livestock Production Science**, v. 68, p. 205-216, 2001.

FREGONESI, J. A. et al. Effects of Bedding Quality on Lying Behavior of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 12, p. 5468-5472, 2007a.

FREGONESI, J. A.; TUCKER, C. B.; WEARY, D. M. Overstocking Reduces Lying Time in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 7, p. 3349-3354, 2007b.

FREGONESI, J. A. et al. Neck-rail position in the free stall affects standing behavior and udder and stall cleanliness. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 5, p. 1979-1985, 2009.

FRIEND, T. H.; POLAN, C. E. Social Rank, Feeding Behavior, and Free Stall Utilization by Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 57, p. 1214-1220, 1974.

GALINDO, F; BROOM, D. M. The relationships between social behaviour of dairy cows and the occurrence of lameness in three herds. **Research in Veterinary Science**, v. 69, p. 75-79, 2000.

GONZÁLEZ, M.; YABUTA, A. K.; GALINDO, F. Behaviour and adrenal activity of first parturition and multiparous cows under a competitive situation. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 83, p. 259-266, 2003.

ITO, K. et al. Associations between herd-level factors and lying behavior of freestall-housed dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 4, p. 2081-2089, 2014.

KEYS, J. E. JR.; SMITH, L. W.; WEINLAND, B. T. Response of Dairy Cattle Given a Free Choice of Free Stall Location and Three Bedding Materials. **Journal of Dairy Science**, v. 59, p. 1157-1162, 1976.

KRAWCZEL, P. D. et al. Effect of alternative models for increasing stocking density on the short-term behavior and hygiene of Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 5, p. 2467-2475, 2012a.

KRAWCZEL, P. D. et al. Short-term increases in stocking density affect the lying and social behavior, but not the productivity, of lactating Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 8, p. 4298-4308, 2012b.

MENDL, M. Some problems with the concept of a cut-off point for determining when an animal's welfare is at risk. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 31, p. 139-146, 1991.

MUNKSGAARD, L. et al. Quantifying behavioural priorities - effects of time constraints on behaviour of dairy cows, Bos Taurus. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 92, p. 3-14, 2005.

PHILIPS, C. J. C.; RIND, M. I. The Effects of Social Dominance on the Production and Behavior of Grazing Dairy Cows Offered Forage Supplements. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 1, p. 51-59, 2002.

ROBICHAUD, M. V. et al. When and where do dairy cows defecate and urinate? **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 10, p. 4889-4896, 2011.

RUSHEN, J. Changing concepts of farm animal welfare: bridging the gap between applied and basic research. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 81, p. 199-214, 2003.

SOLANO, L. et al. Prevalence of lameness and associated risk factors in Canadian Holstein-Friesian cows housed in freestall barns. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 10, p. 6978-6991, 2015.

SOLANO, L. et al. Associations between lying behavior and lameness in Canadian Holstein-Friesian cows housed in freestall barns. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 3, p. 2086-2101, 2016.

TAUSON, R. Health and Production in Improved Cage Designs. **Poultry Science**, v. 77, p. 1820-1827, 1998.

TELEBI, A. et al. Reduced stocking density mitigates the negative effects of regrouping in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 3, p. 1358-1363, 2014.

TELEZHENKO, E. et al. Prevalence of lameness and associated risk factors in Canadian Holstein-Friesian cows housed in freestall barns. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 6, p. 3064 - 3069, 2012.

TUCKER, C. B.; WEARY, D. M.; FRASER, D. Free-Stall Dimensions: Effects on Preference and Stall Usage. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 1208-1216, 2004.

TUCKER, C. B.; WEARY, D. M.; FRASER, D. Influence of Neck-Rail Placement on Free-Stall Preference, Use, and Cleanliness. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 2730-2737, 2005.

VAL-LAILLET, D.; VEIRA, D. M.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. *Short Communication*: Dominance in Free-Stall-Housed Dairy Cattle Is Dependent upon Resource. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 10, p. 3922-3926, 2008.

- VON KEYSERLINGK, M. A. G. et al. *Invited review: The welfare of dairy cattle - Key concepts and the role of science.* **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 9, p. 4101-4111, 2009.
- VON KEYSERLINGK, M. A. G. et al. Benchmarking cow comfort on North American freestall dairies: management for high-producing Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 7399–7408, 2012.
- WANG, F. X. et al. Effects of stocking density on behavior, productivity, and comfort indices of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 5. P. 3709-3717, 2016.
- WEARY, D. M.; FRASER, D. Signalling need: costly signals and animal welfare Assessment. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 44, p. 159-169, 1995.
- WEBSTER, A. J. F. Farm Animal Welfare: the Five Freedoms and the Free Market. **The Veterinary Journal**, v. 161, n. 3, p. 229-237, 2001.
- WHISTANCE, L. K. et al. Defaecation behaviour of dairy cows housed in straw yards or cubicle systems. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 105, p. 14-25, 2007.
- WHISTANCE, L. K. et al. Eliminative behaviour of dairy cows at pasture. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 130, p. 73-80, 2011.
- WINCKLER, C.; TUCKER, C. B.; WEARY, D. M. Effects of under- and overstocking freestalls on dairy cattle behavior. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 170, p. 14-19, 2015.
- WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH (OIE). Introduction to the recommendations for animal welfare. In: World Organization for Animal Health (OIE). **Terrestrial Animal Health Code**. Artigo 7.1.1. Paris, 2008. p. 235–236.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Estudar fatores intrínsecos e extrínsecos de vacas leiteiras, associados ao comportamento anormal de defecar na posição deitada no sistema *freestall*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Observar e identificar vacas leiteiras manejadas em sistema de confinamento *freestall* que apresentam o comportamento anormal de defecar na posição deitada;
- 2) Avaliar a relação entre a expressão do comportamento de defecar na posição deitada no sistema *freestall* e as características intrínsecas das vacas;
- 3) Avaliar os efeitos de diferentes densidades animal sobre o comportamento de defecar na posição deitada em vacas leiteiras confinadas em sistema *freestall*;
- 4) Avaliar a relação entre comportamentos hierárquicos de vacas leiteiras e a expressão do comportamento de defecar na posição deitada no sistema *freestall*.

4 ARTIGO A

(Escrito seguindo as normas para submissão à revista *Journal of Dairy Science*)

VACAS LEITEIRAS NO FREESTALL E O COMPORTAMENTO DE DEFECAR NA POSIÇÃO DEITADA

RESUMO

Compreender o comportamento anormal de defecar na posição deitada em vacas leiteiras manejadas no confinamento *freestall* pode permitir melhorias no *design* do confinamento, manejo e conforto animal. Este é o primeiro estudo a abordar o comportamento de defecar na posição deitada em vacas leiteiras manejadas em sistema *freestall*. O objetivo desta pesquisa foi quantificar vacas que defecam na posição deitada e avaliar a expressão deste comportamento a fatores intrínsecos de vacas leiteiras. Foram utilizadas 272 vacas da raça Holandesa em lactação, manejadas em confinamento *freestall*, com $38,1 \pm 10,7$ kg/d de produção de leite, $710,4 \pm 88,9$ kg de peso corporal, um a seis número de partos com mediana dois, $165 \pm 107,2$ dias em lactação, $53 \pm 65,6$ dias de prenhez (média \pm DP) e escore de locomoção de um a quatro com mediana dois. Observações diretas de comportamento foram realizadas por um único observador, previamente treinado. As observações tiveram início as 05h00, 06h00, 07h00 e 08h00 nos dias um, dois, três e quatro, respectivamente, e seguiram a cada quatro horas ao longo do dia, totalizando cinco observações por dia. Este cronograma de quatro dias de observações foi realizado três vezes, totalizando 12 dias não consecutivos. Um total de 243 eventos de defecação na posição deitada foram observados. Todas as vacas foram observadas deitadas no mínimo duas vezes durante o experimento, totalizando 6158 eventos. As variáveis foram testadas por meio de regressão logística com seleção *stepwise*. O número de eventos de defecação deitada foi positivamente afetado por eventos de repouso na posição deitada e pelo nível de produção de leite. Para cada unidade a mais no número de eventos de repouso deitado e na produção de leite a razão de chances para a defecação deitada aumentou em 0,04 e 2,7 ($P < 0,0202$ e $P < 0,0300$), respectivamente. Em conclusão, com o aumento dos fatores intrínsecos repouso na posição deitada e nível de produção de leite, vacas leiteiras expressaram mais vezes o comportamento de defecar na posição deitada.

Palavras-chave: Confinamento. Conforto animal. Excreção. Lactação. Observação direta.

Dairy cows housed in freestall and the lying defecation behavior

L. G. Mangilli,* J. M. C. Van Os,‡ M. A. G. von Keyserlingk,† J. A. Fregonesi,* D. M. Weary†

*Department of Animal Science, State University of Londrina (UEL), Londrina, PR, Brazil, 86057-970

†Animal Welfare Program, Faculty of Land and Food Systems, University of British Columbia, 2357, Main Mall Vancouver, BC, Canada, V6T 1Z6

‡Current address: Department of Dairy Science, University of Wisconsin-Madison, USA 53706

Corresponding author: Daniel M. Weary. Mailing address: 2357 Main Mall, Vancouver, BC, Canada, V6T 1Z6. Phone: 604-822-3954, E-mail address: dan.weary@ubc.ca

ABSTRACT

A better understanding of the abnormal behavior of defecate while lying down in dairy cows housed in freestall might allow improving housing design, animal handling and animal comfort. However, this is the first study to address the lying defecation behavior of dairy cows housed in freestall. We aimed with this study identify cows performing lying defecation behavior and evaluate the relationship between the expression of this behavior and intrinsic factors of the cows. We used 272 lactating Holstein cows with 38.1 ± 10.7 kg daily milk production, 710.4 ± 88.9 kg body weight, parity from 1 to 6 with median of 2, 165 ± 107.2 days in milking, 53 ± 65.6 days carrying calf (mean \pm SD) and gait score from 1 to 4 with the median of 2. Direct behavior observations were taken by a single observer, previously trained. Observations started at 0500, 0600, 0700 and 0800 h on days 1, 2, 3 and 4, respectively, and

followed every four hours throughout the day, totalizing five observations per day. This four-day observation schedule was performed three times, totalizing 12 non-consecutive days. A total of 243 lying defecations events were observed. All cows were observed lying down at least twice during the experimental period, totalizing 6158 lying events. The predictor variables were tested using logistic regression with stepwise selection. Lying defecation events was positively affected by lying events and milk yield. For each additional unit in the number of lying events and in milk production the odds ratio for lying defecation increased by 0.04 and 2.7 ($P < 0.0202$ and $P < 0.0300$), respectively. In conclusion, as the intrinsic factors lying behavior and milk yield increased, dairy cows performed more times lying defecation behavior.

Key words: animal comfort, direct observation, excretion, indoor-housing, lactation.

INTRODUCTION

Producers have to provide a dry and soft-bedded lying area (Drissler et al., 2005; Fregonesi et al., 2007a) as well as stalls that fit the cows (Bernardi et al., 2009; Fregonesi et al., 2009), in order to achieve a reasonable level of cow comfort. These are very important features of freestalls once cows spend between eight and sixteen hours per day lying down (Tucker et al., 2005). The use of the freestall by cows may indicate the management quality for the animal welfare. Cows change the way to use the freestall according to the comfort it provides. This can occur for both resting and feeding and also for other behaviors as defecation (Huzzey et al., 2006; Fregonesi et al., 2007b; Whistance et al., 2007).

The normal defecation behavior dairy cows kept on pasture is to move a few steps forward shortly after defecation. The behavior of avoiding body contamination with fresh

feces is predominant in grazing cows. Additionally, defecating while lying down is not a habitual eliminative behavior for cows on pasture (Whistance et al., 2011).

Dairy cows indoor housed have individual differences in the daily frequency of defecation (Aland et al., 2002; Whistance et al., 2007; Fregonesi et al., 2009; Robichaud et al., 2011). Studies to date have shown that dairy cows have variable defecation frequencies on the lying areas (Whistance et al., 2007; Robichaud et al., 2011) and for posture of the cow when performing this behavior (Fregonesi et al., 2009; Whistance et al., 2011).

Dairy cows housed in freestalls commonly soil the stall surface by defecating while standing fully in the stall (Tucker et al., 2005). Additionally, the frequency of defecation in the stall may be related to high proportion of cows defecating in the minutes following the moment of stand up (Robichoud et al., 2011). However, there are evidences in the scientific literature that dairy cows kept indoor may defecate while lying down (Aland et al., 2002; Tucker et al., 2005; Whistance et al., 2007; Fregonesi et al., 2009; Robichaud et al., 2011). In tie-stall housing the lying defecation behavior was rarely observed, however about 10% of the cows defecated during the movement of standing up (Aland et al., 2002).

In freestalls, Tucker et al. (2005) observed relatively small proportion of cows defecating in the stalls, but most of these eliminative behavior that soiled the stalls occurred while cows were lying down (69%). Similarly, Fregonesi et al., (2009) found a substantial percentage of the defecation events in the stalls occurring while cows were lying down (55%). Robichaud et al. (2011) observed in two experiments, 4.7% and 8.2% of cows lying and defecating, from the total defecations events in the pen.

Although the phenomenon of lying defecation has been documented in these studies, the factors that may be associated with it have not been explicitly examined. Several intrinsic factors may be related to this behavior, as productive (parity and days in milking) and healthy (lameness) factors, as they are related to lying behavior (Solano et al., 2016; Ito et al., 2014).

Looking at the pre-eliminative, during and post-eliminative behaviors sequence of dairy cows, Whistance et al. (2007) found greater proportion of defecation while lying down in the high yield group than in the low yield group of cows, in both freestall and straw-yard housing systems.

To our knowledge, no study to date has examined directly the factors that may be associated with lying defecation behavior in dairy cattle. A better understanding of factors that could contribute to this behavior might permit improving housing management, animal handling and animal comfort. Our objective was to identify dairy cows housed in freestall that exhibit the abnormal behavior of defecate while lying in the stalls and evaluate the relationship between the expression of the lying defecation behavior and intrinsic factors of the cows. We hypothesized that intrinsic factors to cows that are related to the increase of their weight or size, as well as to the movements that require some effort, may lead the cows to defecate lying down instead of getting up to defecate and then lie down again.

MATERIALS AND METHODS

Cows, Housing, and Diet

All cows in this study were cared for under the Canadian Council of Animal Care guidelines (CCAC, 2009), and all procedures were approved by the UBC Animal Ethics Committee. This study was carried out at the University of British Columbia's Dairy Education and Research Center in Agassiz, British Columbia, Canada, and took place between May and June 2017.

During the behavioral data collection the farm handling routine was maintained the same for all lactating cows. In total, 272 Holstein-Frisian lactating cows were enrolled in the

study. The cows were weighed twice on 2 different days, on a scale located next to the milking parlor. When the weights differed by >20 kg the cow was weighed a third time, and the observation differing by >20 kg was discarded. Two experienced observers assessed the gait scores of each cow. Gait scoring was done using a 5-point scale (1 = sound, 5 = severely lame) following Flower and Weary (2006). Daily milk production data were collected for the study period from the computerized milking and management software system, Dairy Comp 305 (Valley Agricultural Software, Tulare, CA). Parity, days in milking and days carrying calf were compiled from herd records at the first day of the observations period.

The cows had on average (mean \pm SD) body weight of 710.4 ± 88.9 kg and milk yield of 38.1 ± 10.7 kg/d (Table 1). Cow's days in milking was 165 ± 107.2 and days carrying calf was 53 ± 65.6 (mean \pm SD, Table 1). The cows' parity was from 1 to 6, where the median was parity 2 (Figure 1). The gait score of the cows varied from 1 to 4, no cow was gait scored 5 in this study, and the median was gait score 2 (Figure 2).

Cows were kept in a naturally ventilated (with supplemental 72-in. Artex Storm fans, Artex Barn Solutions, Abbotsford, BC, Canada) wooden-frame freestall barn (42×93 m) with a north–south orientation and curtained sidewalls. Cows were housed concurrently in 6 pens that had different size, as following: 1) 36 stalls; 2) 36 stalls; 3) 36 stalls; 4) 48 stalls; 5) 48 stalls; and 6) 24 stalls.

Stalls were divided by Dutch-style partitions and configured in 3 rows. In each pen, 2 rows were faced one another and were open at the front (head to head), with a bed length of 2.4 m. The third row faced a chasing alley (separated by a low concrete wall). Stalls were bedded with 0.4 m of recycled washed river sand that was added when needed and raked every morning and afternoon milking. Stalls measured 1.2 m wide from center to center. The neck rail was placed at 1.27 m above the stall surface and 1.68 m from the inside of the rear curb. The brisket board was placed 1.8 m from the inside of the curb and the curb was 0.2 m

in height as measured from the floor of the alley. Cows accessed the feed bunk via a post-and-rail barrier. The feeding alley was 3.6 m wide and the alley between the rows was 2.5 m wide. Flooring throughout the pen (including the crossover alley) was grooved concrete. Alleys were cleaned by automatic scrapers every 4 hours and the crossover alley was manually scraped twice a day during morning and afternoon milking.

Cows were fed *ad libitum* with TMR formulated following NRC (2001) guidelines to meet or exceed the requirements of a 659 kg Holstein producing 34 kg of milk/d. The TMR was formulated for 39% corn silage, 28% tall fescue silage, 9% alfalfa hay, and 24% concentrate and mineral mix on a DM basis. Major ingredients of the concentrate included fine ground barley, rolled barley, rolled corn, distillers corn wheat blend, canola meal, and soybean meal. Fresh feed was delivered twice daily during each milking and cows had access when they returned to their pens. Feed was pushed up 3 times per day (at 1100, 1900 and 2200 h). Fresh water was freely available from a self-filling trough located on the crossover alley in each pen. Milking was twice daily (starting around 0530 and 1530 h) in a double-12 parallel milking parlor.

Behavioral Data Collection

The behavior of the cows was recorded using direct observation. Before starting behavioral data collection, two observers were trained for inter-observer reliability to obtain similar results on lying defecation behavior data. Experimental data collection only commenced once the reliability test was a satisfactory level ($Kappa > 0.86$).

All cows were observed during 12 non-consecutive days, every 4 h (5 times daily) by a time schedule, which was repeated 3 times (Table 2). Scrapers were switched to the manual mode at the beginning of each observation period and were turned on after each observation time. This was done to prevent the automatic scrapers from removing feces during the

observation time because the observation of lying defecation was in part based on assessing feces piles.

The same observer recorded the lying and lying defecation data throughout the study. Cows were acclimatized to the observer previously to the experimental days. The observer entered each pen, avoiding disturbing cows, and following a consistent route. The measures recorded were the ear tag numbers of the cows lying down, evidence of lying defecation behavior, or whether the pen was empty because the observation time coincided with the milking.

Two types of lying defecation behavior were recorded: 1) active defecation while an animal was lying down and 2) feces deposited behind an animal lying down, which were assigned to that cow. For the latter type, specific criteria were observed to determine whether the defecation occurred while the cow was lying down: the feces had to be fresh, with less than 50% covered by sand, without hoof prints and shaped looking like a lying defecation. Also, for feces with a loose consistency, the peak of the feces pile should have proximity to the cow's anus instead of at the center of the pile; and feces with a firm consistency should have cylindrical shape with one end near the animal's anus, rather than shaped like a disc (Figure 3). Both types of lying defecation measures were combined.

Statistical Analyses

All statistical analyses were performed in SAS (version 9.21; SAS Institute Inc., Cary, NC). The predictors considered were: milk yield, body weight, gait score, parity, age, days in milking, days carrying calf and frequency of lying events observed. Descriptive statistics were generated using the MEANS and FREQ procedures for exploratory data analysis. Probability distribution plots were generate using the UNIVARIATE procedure to check extreme outliers

and to perform the normality tests. The CORR procedure was used to check for correlations between the explanatory variables. If 2 variables were highly correlated ($r > 0.8$), the variable with the most biological relevance was retained for the model (Table 3). Therefore, the variable age was removed from the model while the variable parity was kept in it.

Logistic regression was conducted to test the predictors for the outcome frequency of lying defecation events, with cow as random effect. The analysis was performed using the LOGISITC procedure (distribution = cumulative and link = logit). The model was constructed using the Stepwise Selection procedure. It tested all possible predictors, but only the significant ones remained in the model. Significance was set at $p \leq 0.05$.

RESULTS

A total of 243 lying defecations events were observed during the study, with the frequency distribution ranging from 0 to 6. A total of 155 (57% of the experimental cows) cows showed no lying defecation during the experimental period, while 57 cows showed this behavior once (21%), 26 cows showed twice (9.6%), 14 cows showed 3 times (5.1%), 11 cows showed 4 times (4%), 6 cows showed 5 times (2.2%) and 3 cows showed 6 times (1.1%).

All the 272 lactating cows were observed lying down at least twice during the study, totalizing 6158 lying events observed. Cows showed a frequency distribution of lying events from 2 to 41, with the median of 24.5 lying events. Lying defecation was affected by lying events. For a one unit change in the number of lying events observed, the odds ratio for increasing lying defecation is expected to change by 0.04 ($P < 0.0202$, Table 4, Figure 4). Lying defecation was also affected by milk yield (38.1 ± 10.7 kg/d). For a one unit change in

the milk yield, the odds ratio for increasing lying defecation is expected to change by 2.7 ($P < 0.0300$, Table 4, Figure 5).

The variables body weight, gait score, parity, days in milking and days carrying calf had no effect on lying defecation expression in dairy cows in this study.

DISCUSSION

The usual posture that cattle evacuate feces is standing up, arching back, placing apart and forward hind legs, and extending the tail away from the posterior body-part likely to avoid contamination (Aland et al., 2002; Whistance et al., 2007; Whistance et al., 2011). However, some studies have reported the unusual posture of confined dairy cows defecating while lying down (Tucker et al., 2005; Fregonesi et al., 2009; Robichauld et al., 2011). This is the first study that provides figures on the behavior of defecating while lying down of dairy cows housed in freestall.

Resting in the lying position is an essential behavior for the dairy cows comfort. Lactating cows may spend between eight to sixteen hours per day lying down, divided in lying bouts (Tucker et al., 2005). The lying behavior may be influenced by several factors, including those related to the freestall design and maintenance, been considered an important indicator of animal comfort and health in dairy herds housed in freestall (Tucker et al., 2004; Drissler et al., 2005; Tucker et al., 2005; Fregonesi et al., 2007a; Fregonesi et al., 2007b; Ito et al., 2014). However, the lying time of dairy cows should be always be interpreted together with other factors affecting the herd. Therefore, knowing that to perform lying defecation behavior the cows must be lying down, the frequency of lying events affects the lying defecation behavior positively (Table 3, Figure 4).

The positive effect of milk yield on lying defecation (Table 3, Figure 5) may be supported by the idea that cows with full or huge udders may have difficulty in performing movements, such as getting up and lying down. These movements are determined by the skeletal and muscular structure, thus cows have little or no possibility to adapt their movement patterns to the circumstances (Osterman and Redbo, 2001). Therefore, some cows may be more prone to defecate while lying down, by avoiding moving often throughout the day. This result is in agreement with Whistance et al. (2007) that found the high yield group of cows showed more lying defecation than low yield group of cows, in both freestall and straw-yard housing systems.

The body weight was chosen as a predictor for being correlated with the cow's size (Heinrichs et al., 1992; Enevoldsen and Kristensen, 1997). According to Fregonesi et al. (2009), stall components as partitions and restrictive neck rail may hinder cows from freely getting up and lying down since they do not have an ample space to move, affecting mainly larger cows. In this study the cow size, represented by its body weight, did not influence the expression of lying defecation behavior. This may be understood as that freestall design, which includes stall measures and neck rail position, is suitable for these cows not restricting their freely movement. Likewise, the variable days carrying calf, which increases the cow's weight and size, did not influence the expression of the lying defecation behavior in dairy cows.

Some studies have shown that lame cows spend more time lying down, with variable bout number and duration, compared with non-lame cows (Ito et al., 2014; Solano et al., 2016). On the other hand, the number of soft tissue lesions and lameness increased as time spent standing with the front hooves on the stall and total time standing increased (Galindo and Broom, 2000). However, in this study the lying defecation behavior, which requires the cows to lie down to perform it, was not influenced by the gait score. This result may have

been influenced by the absence of cows gait scored as 5 and few cows gait scored as 4 involved in the study.

Overall, from the knowledge that the expression of lying defecation behavior increases with increasing milk yield, other factors related to the comfort of high producing dairy cows should be explored, as bedding quality and udder health.

CONCLUSIONS

In conclusion, the expression of the lying defecation behavior in dairy cows housed in freestall is positively affected by lying behavior and milk yield. High producing cows may defecate while lying down avoiding feeling discomfort in their udders due to the movements of getting up and lie down again. We suggest that future studies on this behavior consider the effect of stall configuration, such as neck rail, size and bed maintenance on the lying defecation behavior.

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and UBC Animal Welfare Program for providing scholarship for Livia Galiano Mangilli. We also thank Universidade Estadual de Londrina and members of the staff of the University of British Columbia Dairy Research and Education Centre for their help and cooperation.

REFERENCES

- Aland, A., L. Lidfors and I. Ekesbo. 2002. Diurnal distribution of dairy cow defecation and urination. *Appl Anim Behav Sci.* 78:43–54.
- Bines, J. A. 1976. Regulation of food intake in dairy cows in relation to milk production. *Livest Sci.* 3:115-128.
- CCAC. 2009. Canadian Council on Animal Care guidelines on: The care and use of farm animals in research, teaching and testing. Canadian Council on Animal Care, Ottawa, ON, Canada.
- Drissler, M., M. Gaworski, C. B. Tucker, and D. M. Weary. 2005. Freestall Maintenance: Effects on Lying Behavior of Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 88:2381–2387.
- Enevoldsen, C. and T. Kristensen. 1997 Estimation of Body Weight from Body Size Measurements and Body Condition Scores in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 80:1988–1995.
- Flower, F. C. and D. M. Weary. 2006. Effect of Hoof Pathologies on Subjective Assessments of Dairy Cow Gait. *J. Dairy Sci.* 89:139–146.
- Forbes, J. M. 1977. Development of a model of voluntary food intake and energy balance in lactating cows. *Anim Prod.* 24:203–214.
- Fregonesi, J. A., D. M. Veira, M. A. G. von Keyserlingk and D. M. Weary. 2007a. Effects of Bedding Quality on Lying Behavior of Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 90:5468–5472.
- Fregonesi, J. A., C. B. Tucker and D. M. Weary. 2007b. Overstocking Reduces Lying Time in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 90:3349–3354.
- Fregonesi, J. A., M. A. G. von Keyserlingk, C. B. Tucker, D. M. Veira and D. M. Weary. 2009. Neck-rail position in the free stall affects standing behavior and udder and stall cleanliness. *J. Dairy Sci.* 92:1979–1985.
- Galindo, F. and D. M. Broom. 2000. The relationships between social behaviour of dairy cows and the occurrence of lameness in three herds. *Res Vet Sci.* 69:75–79.
- González, M., A. K. Yabuta and F. Galindo. 2003. Behaviour and adrenal activity of first parturition and multiparous cows under a competitive situation. *Appl Anim Behav Sci.* 83:259-266.
- Heinrichs, A. J., G. W. Rogers and J. B. Cooper. 1992. Predicting Body Weight and Wither Height in Holstein Heifers Using Body Measurements. *J. Dairy Sci.* 75:3576-3581.

- J. M. Huzzey, T. J. DeVries, P. Valois and M. A. G. von Keyserlingk. 2006. Stocking Density and Feed Barrier Design Affect the Feeding and Social Behavior of Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 89:126–133.
- Ingvartsen, K. L., A. H. Refsgaard and J. Foldager. 1992. Effect of Sex and Pregnancy on Feed Intake Capacity of Growing Cattle. *Acta Agric. Scand. A.* 42:40-46.
- NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
- Österman, S. and I. Redbo. 2001. Effects of milking frequency on lying down and getting up behaviour in dairy cows. *Appl Anim Behav Sci.* 70:167-176.
- Oudshoorn, F. W., T. Kristensen and E. S. Nadimi. 2008. Dairy cow defecation and urination frequency and spatial distribution in relation to time-limited grazing. *Livest Sci.* 113:62-73.
- Robichaud, M. V., A. M. de Passillé, D. Pellerin and J. Rushen. 2011. When and where do dairy cows defecate and urinate. *J. Dairy Sci.* 94:4889–4896.
- Tucker, C. B.; D. M. Weary and D. Fraser. 2004. Free-Stall Dimensions: Effects on Preference and Stall Usage. *J. Dairy Sci.* 87:1208–1216.
- Tucker, C. B., D. M. Weary and D. Fraser. 2005. Influence of Neck-Rail Placement on Free-Stall Preference, Use, and Cleanliness. *J. Dairy Sci.* 88:2730–2737.
- Wierenga, H. K. 1990. Social dominance in dairy cattle and the influences of housing and management. *Appl Anim Behav Sci.* 27:201-229.
- Whistance, L. K., D. R. Arney, L. A. Sinclair and C. J. C. Phillips. 2007. Defaecation behaviour of dairy cows housed in straw yards or cubicle systems. *Appl Anim Behav Sci.* 105:14–25.
- Whistance, L. K., L. A. Sinclair, D. R. Arney and C. J. C. Phillips. 2011. Eliminative behaviour of dairy cows at pasture. *Appl Anim Behav Sci.* 130:73–80.

Table 1. Summary of the predictors for lying defecation behavior in dairy cows housed in freestall

Variables	Mean	Range	SE	Shapiro-Wilk ¹
Milk yield ² (kg/d)	38.1	58	0.7	0.0396
Days in milking	164.9	536	6.5	<0.0001
Days carrying calf	53.0	213	4.0	<0.0001
Body weight (kg)	710.4	570	5.8	0.2387
Lying events ³	22.6	-	0.55	-

¹ $P > 0.05$ indicates that the data follow a normal distribution.

²Daily average corresponding to the experimental period from a projected 305-d of milk production.

³Lying events observed during the experimental period.

Table 2. Schedule¹ of behavioral observations

Day	1 ^a observation	2 ^a observation	3 ^a observation	4 ^a observation	5 ^a observation
1	0500 h	0900 h	1300 h	1700 h	2100 h
2	0600 h	1000 h	1400 h	1800 h	2200 h
3	0700 h	1100 h	1500 h	1900 h	2300 h
4	0800 h	1200 h	1600 h	2000 h	0000 h
Pause					

¹Repeated 3 times, totalizing 12 non-consecutive days of observations.

Table 3. Pearson correlation coefficients¹ between predictors of dairy cows housed in freestall

	Predictors ²					
	BW	Parity	Age	DIM	DCC	GS ⁴
MY ³ (kg/d)	0.08	0.34***	0.3***	-0.12	-0.34***	0.05
BW (kg)		0.58***	0.67***	0.19***	0.18***	0.08*
Parity (No.)			0.95***	0.02	-0.03	0.1*
Age (months)				0.17***	0.06	0.13*
DIM					0.59***	0.003
DCC					1.0	-0.05

¹The magnitude of the correlation coefficients was considered less than 0.80.

²Predictors: MY = milk yield; BW = body weight; DIM = days in milking; DCC = days carrying calf; GS = gait score.

³Daily average corresponding to the experimental period from a projected 305-d of milk production.

⁴Gait score followed a 5-point scale where 1 = sound and 5 = severely lame (Flower and Weary, 2006).

* $P < 0.05$, *** $P < 0.0001$.

Table 4. Final logistic regression model¹ for factors associated with the expression of lying defecation behavior in dairy cows housed in freestall

Variables	Coefficient	SE	Odds ratio (95% CI) ²	P-Value
Intercept	-5.4	2.1	-	<.0001
Milk yield ³ (kg/d)	2.7	1.3	15.2 (1.3, 182.5)	0.0300
Lying events ⁴	0.04	0.02	1.05 (1.01, 1.09)	0.0202

¹ $\log [p / (1-p)] = b_0 + b_1 \cdot \text{milk yield} + b_2 \cdot \text{lying events}$, where p is the lying defecation probability.

²Adjusted odds- ratio and 95% CI for a one unit change in the predictor variable, the odds ratio for a positive outcome is expected to change by the respective coefficient, given the other variables in the model are held constant.

³Daily average corresponding to the experimental period from a projected 305-d of milk production.

⁴Lying events observed during the experimental period.

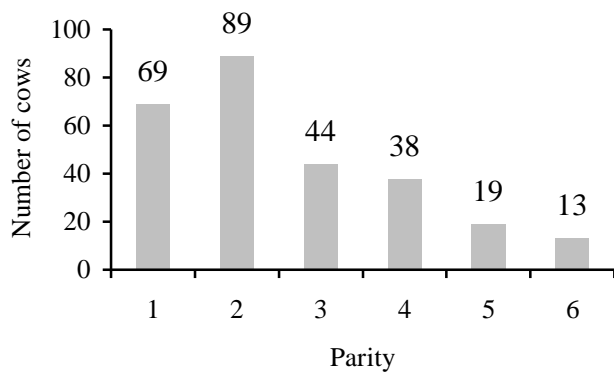


Figure 1. Parity frequency distribution of dairy cows housed in freestall.

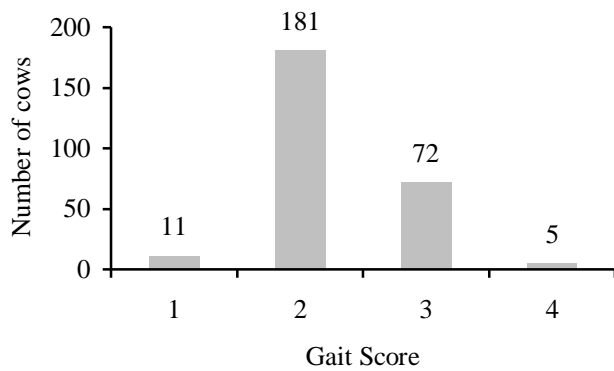


Figure 2. Gait score frequency distribution of dairy cows housed in freestall (using a 5-point scale where 1 = sound and 5 = severely lame, following Flower and Weary, 2006).

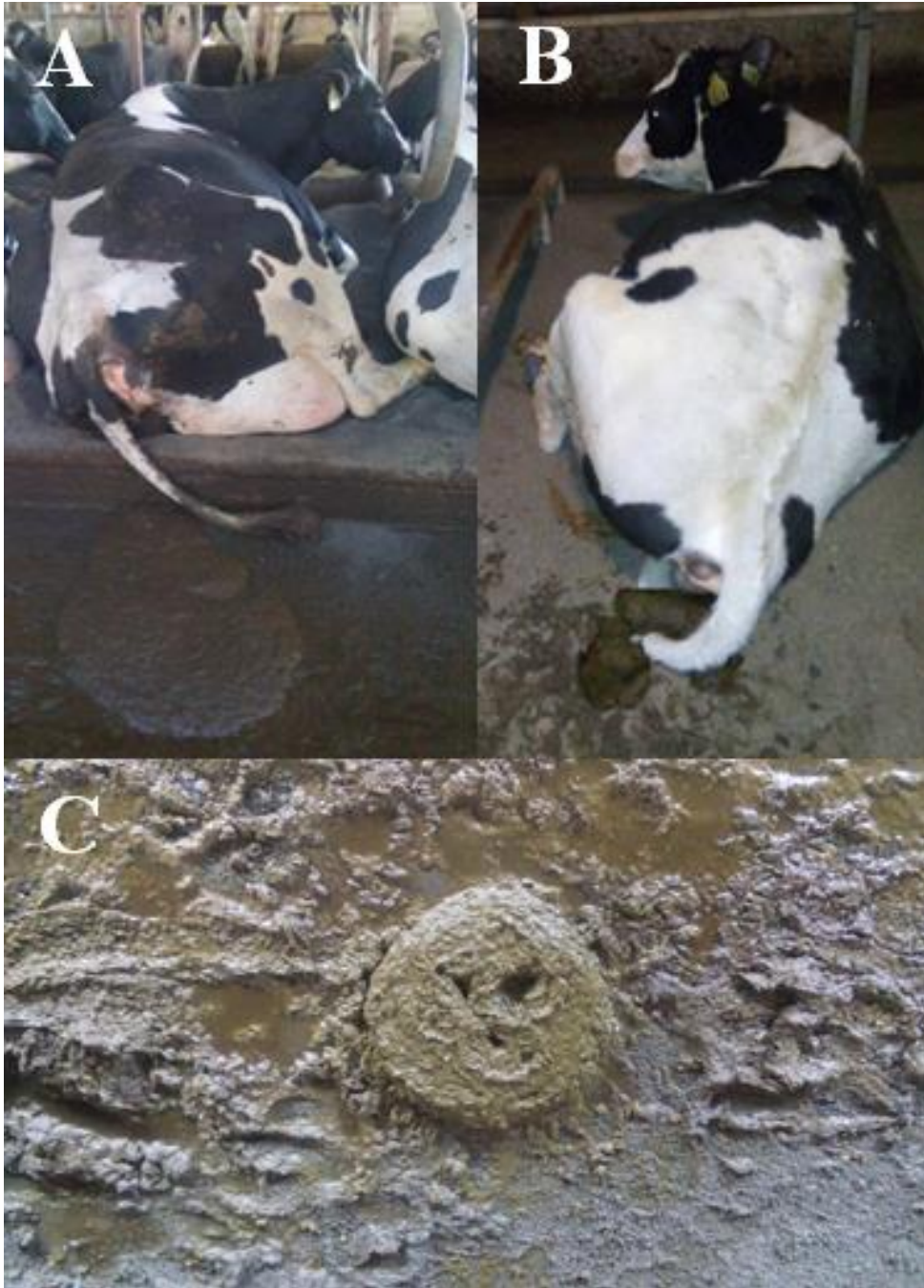


Figure 3. Lying defecation of feces with loose consistency (A); lying defecation of feces with firm consistency (B); feces from standing defecation (C).

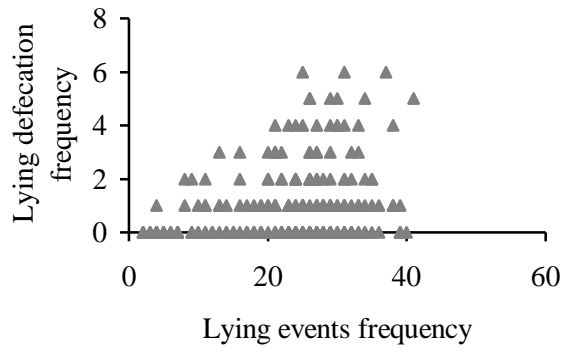


Figure 4. Lying frequency *versus* lying defecation frequency observed in dairy cows housed in freestall.

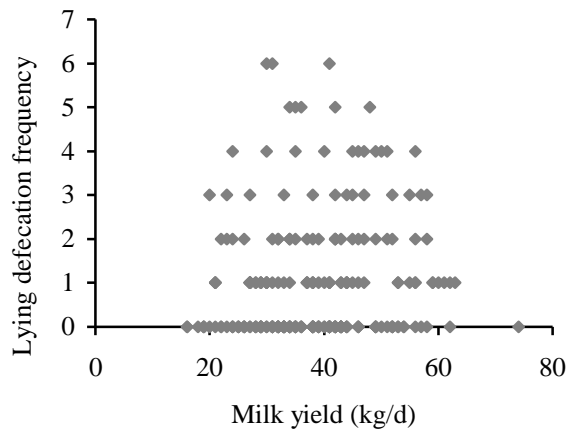


Figure 5. Milk yield *versus* lying defecation frequency of dairy cows housed in freestall.

5 ARTIGO B

(Escrito seguindo as normas para submissão à revista *Journal of Dairy Science*)

EFEITOS DA DENSIDADE ANIMAL NO COMPORTAMENTO DE DEFECAR NA POSIÇÃO DEITADA EM VACAS LEITEIRAS NO *FREESTALL*

RESUMO

O comportamento anormal de defecar na posição deitada tem sido observado em vacas leiteiras manejadas em confinamento *freestall*. Sabendo que o número de baias disponíveis por vaca afeta a competição e o tempo de repouso deitado, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de diferentes densidades sobre o comportamento de defecação na posição deitada, utilização de baias individuais e competição de vacas leiteiras. Foram utilizadas 144 vacas da raça Holandesa distribuídas ao acaso em quatro grupos de 36 animais. Os grupos foram balanceados para paridade, dias de lactação e frequência prévia de defecação deitada (dados de um estudo realizado anteriormente). Os grupos foram manejados dois a dois simultaneamente em duas baias adjacentes e aleatoriamente designados aos tratamentos em delineamento experimental *crossover*. Os tratamentos foram: (1) 100% de densidade animal (36 baias individuais para 36 vacas - controle) e (2) 150% de densidade animal (24 baias individuais para 36 vacas - alta densidade). Observações diretas foram realizadas durante o período noturno, com intervalo de 10 minutos (5 minutos em cada baia) por um único observador previamente treinado. Os comportamentos de defecação na posição deitada, deslocamentos da baia individual (deslocamentos concluídos com sucesso e tentativas sem sucesso), posição da vaca a ser deslocada, utilização de baias individuais (repouso deitado, em pé com as patas anteriores sobre a cama e com as quatro patas sobre a cama), utilização de baias individuais de acordo com sua localização na baia e latência para deitar após a ordenha, foram registrados por gravação de voz (exceto para latência para deitar após a ordenha). O Teste-T foi utilizado para as variáveis que apresentaram normalidade dos dados e o teste de Wilcoxon para as variáveis que não apresentaram normalidade dos dados. As vacas apresentaram mais defecação deitada ($0,7 \pm 1,05$ versus $0,5 \pm 0,9$, P-valor = 0,0103), eventos de repouso deitado ($69,6 \pm 12,1$ versus $62,3 \pm 12,8$, P-valor <0,0001) e eventos em pé com as patas anteriores sobre a cama ($9,5 \pm 8,3$ versus $6,7 \pm 6,8$, P-Valor = 0,0001) no tratamento controle, do que em alta densidade. Os tratamentos não influenciaram os deslocamentos (ambos os tipos observados) ($7,2 \pm 6,2$ versus $22,2 \pm 17,6$ e $2,2 \pm 2,9$ versus $12,5 \pm 11,3$, respectivamente) e a posição da vaca a ser deslocada. Além disso, a posição da vaca a ser deslocada não influenciou o resultado do deslocamento em ambos os tratamentos. A defecação deitada diminuiu com o aumento do número de vezes que a vaca foi deslocada, em ambos os tratamentos (P = 0,047, Estimativa = -0,5056). A latência para se deitar após a ordenha não diferiu entre os tratamentos ($76,04 \pm 51,1$ versus $73,9 \pm 54,4$ min). A alta densidade aumentou a utilização de baias individuais localizadas na fileira adjacente ao corredor de alimentação por duas vacas ao mesmo tempo (14 versus 32, P-valor = 0,0268). Em conclusão, o comportamento de defecar na posição deitada de vacas leiteiras pode estar diretamente relacionado ao comportamento de repouso deitado, sendo ambos reduzidos em alta densidade animal. Em geral, a disponibilidade de baias individuais por vaca deve ser adequada para proporcionar área de descanso e conforto animal.

Palavras-chave: Confinamento. Conforto animal. Densidade animal. Excreção. Produção de leite.

Effects of stocking density on the behavior of defecating in the lying position of dairy cows housed in freestall

L. G. Mangilli,* J. M. C. Van Os,‡ M. A. G. von Keyserlingk,† J. A. Fregonesi,* D. M. Weary†

*Department of Zootechny, State University of Londrina (UEL), Londrina, PR, Brazil, 86057-970

†Animal Welfare Program, Faculty of Land and Food Systems, University of British Columbia, 2357, Main Mall Vancouver, BC, Canada, V6T 1Z6

‡Current address: Department of Dairy Science, University of Wisconsin-Madison, USA 53706

Corresponding author: Daniel M. Weary. Mailing address: 2357 Main Mall, Vancouver, BC, Canada, V6T 1Z6. Phone: 604–822–3954, E-mail address: dan.weary@ubc.ca

ABSTRACT

The abnormal behavior of defecate while lying down has been observed in dairy cows housed in freestall. Knowing that number of stalls available per cow affect stall competition and lying time, we aimed with this study to assess the effects of different stocking densities on lying defecation behavior, stall use and stall competition of dairy cows. We used 144 Holstein cows randomly distributed in four groups of 36. Groups were balanced for parity, days in milking and previous lying defecation frequency (data from a previous study). Two groups were housed concurrently in two adjacent pens and randomly assigned to the treatments order in a crossover experimental design. Treatments were: (1) 100% of stocking density (36 lying stalls for 36 lactating cows - control) and (2) 150% of stocking density (24 lying stalls for 36 lactating cows - overstocked). Instantaneous time sampling was taken once every 10-min (5-

min interval in each pen) by live observation during night period. Lying defecation behavior, successful and unsuccessful stall displacements, receiver position, stall use (as lying, perching or standing), stall use according to its row in the pen and latency to lie down after milking were registered by voice recorder (except for latency to lie down). T-test was used for the variables that presented normality data and Wilcoxon test was used for the variables that did not present normality data. Cows had more lying defecation (0.7 ± 1.05 versus 0.5 ± 0.9 , P -Value = 0.0103), lying (69.6 ± 12.1 versus 62.3 ± 12.8 , P -Value < 0.0001) and perching (9.5 ± 8.3 versus 6.7 ± 6.8 , P -Value = 0.0001) events when housed in the control treatment then overstocked. The stocking density treatments did not influence successful and unsuccessful displacements (7.2 ± 6.2 versus 22.2 ± 17.6 and 2.2 ± 2.9 versus 12.5 ± 11.3 , respectively) and receiver position. Also, receiver position did not influence the displacement result in both treatments. Lying defecation decreased as increasing the times a cow was displaced (receiver cow), in both treatments (P -Value = 0.047, Estimate = -0.5056). Cows had no difference on the latency to lie down after milking between treatments. Overstocking density increased the use of stalls located at the row adjacent to the feeding alley by two cows at the same time (14 versus 32, P -Value = 0.0268). In conclusion, lying defecation behavior of dairy cows may be directly related to lying behavior and reduced in overstocking density. Overall, the stalls availability per cow must be adequate to provide resting area and animal comfort.

Key words: animal comfort, confinement, excretion, milk production, stocking density.

INTRODUCTION

Dairy cows are very motivated to lie down (Munksgaard et al., 2005) and they spend between eight and sixteen hours per day performing this behavior (Tucker et al., 2005). The competition for resources, as lying stall and feed bunk space, is a natural behavior in dairy

cows. However, when this behavior is increased it becomes undesirable in the dairy herd by depriving subordinate cows of vital elements such as food and resting area. The freestall design and especially its management may contribute to changes in the competitive interaction between dairy cows indoor housed (VON KEYSERLINGK et al., 2009). Increasing stocking density result in increasing competition, which may reduce the lying time of dairy cows (Fregeon et al., 2005; Telge et al., WINCKLER, TUCKER and WEARY, 2015), changing the routine of essential behaviors for the health and welfare of dairy cows (WINCKLER, TUCKER and WEARY, 2015).

An abnormal behavior has been observed in dairy cows housed in freestalls, the defecation while lying down, which is directly affected by lying time, once cows need to be lied down to perform this.

Whistance et al. (2007) recorded 38 and 17 lying defecation events during 24 h of observation (equally divided in 4 consecutive days), for 93 high yield cows and 85 low yield cows, respectively. Fregonesi et al. (2009) reported a mean of 55% (cows ranged from 0 to 93%) of the defecation events in the stall occurring when the cows were lying down. Robichaud et al. (2011) reported that 4.7% and 8.2% of the total defecations events (including events outside of the stall) occurred when the cows were lying in the stall, in 2 different experiments. However, it has not been specifically assessed the relation between lying defecation behavior and lying time, which is a good indicator for animal welfare (Fregonesi & Leaver, 2001).

The lying time of lactating cows freestall-housed may be affected by several factors and a very relevant one is the number of stalls available per cow (stocking density) (Fregonesi et al., 2007b; Krawczel et al., 2012a; Winckler et al., 2015). Fregonesi et al. (2007b) reported lying time of 12.9 h/d when cows were in 100% of stocking density, but this time decreased to 11.2 h/d when cows were overstocked at 150%. Besides that, overstocked cows competed

more by stall displacements and were more likely to compete indirectly for stalls by lying down sooner. Winckler et al. (2015) reported lower lying time, higher proportion of the lying time during daytime, lower latency to lie down after milking and more displacements for cows in 150% stocking density than cows in 100% (11.6 h/24h, 43.2 %, 59 min, 2.9 no./24h; and 12.6, 40.6, 61, 1.1, respectively).

As the number of stalls available per cow affects stall competition and lying time, we hypothesize that stocking density may influence the lying defecation behavior of dairy cows. Our objective was to evaluate the effects of different stocking density on the lying defecation behavior in dairy cows housed in freestall and evaluate the relationship between hierarchical behaviors and the expression of the lying defecation.

MATERIALS AND METHODS

Cows, Diet, and Treatments

All cows in this study were managed and cared for according to the guidelines set by the Canadian Council of Animal Care (CCAC, 2009). Procedures were approved by the UBC Animal Ethics Committee. This study was carried out at the University of British Columbia's Dairy Education and Research Center in Agassiz, British Columbia, Canada, and took place from August to September 2017.

Experimental cows were selected from a Holstein dairy herd and randomly housed in 4 groups of 36 totalizing 144 cows. The number of groups was determined based on a power analysis using experimental results published by Fregonesi et al. (2007b), Winckler et al. (2015), Krawczel et al. (2012a), Krawczel et al. (2012b) and Wang et al (2016). Variables

considered in the power analysis were: total lying time, difference between “overnight” and “daytime” lying time, latency to lie down after milking and stall displacements.

Groups were balanced for parity, DIM and frequency of defecation while lying down (according to the previous study carried out from April to May 2017, where: 0 means that cows did not show; 1 means that cows showed once; and ≥ 2 means that cows showed two times or more lying defecation events). The previous lying defecation frequency was controlled since we predict that cows with different history on lying defecation behavior could show different results in this study. Groups were composed by 18 cows with 0 lying defecation frequency, 14 cows with 2 lying defecation frequency and 4 cows with 1 lying defecation frequency (Table 1).

Cows were fed *ad libitum* with TMR formulated following NRC (2001) guidelines to meet or exceed the requirements of a 659-kg Holstein producing 34 kg of milk / d. The TMR was formulated for 39% corn silage, 28% grass silage, 9% alfalfa hay, and 24% concentrate and mineral mix on a DM basis. Major ingredients of the concentrate included fine ground barley, rolled barley, rolled corn, distillers corn wheat blend, canola meal, and soybean meal. Fresh feed was delivered twice daily during each milking and cows had access when they returned to their pens. Feed was pushed up 3 times per day (at 1100 h, 1900 h and 2200 h). Fresh water was freely available from a self-filling trough located on the crossover alley in each pen. Milking was twice daily (starting around 0700 h and 1700 h) in a double-12 parallel milking parlor.

Two experimental groups were housed concurrently in two adjacent pens (7.2×40.5 m) with 36 stalls in each. The stalls were identified with stickers. Stalls were divided by Dutch-style partitions and configured in 3 rows. In each pen, 2 rows faced one another and were open at the front (head to head), with a bed length of 2.4 m. The third row faced a chasing alley (separated by a low concrete wall). Stalls were bedded with 0.4 m of recycled washed

river sand that was added weekly (during the acclimatization periods) and raked every morning and afternoon milking. Stalls measured 1.2 m wide from center to center. The neck rail was placed at 1.27 m above the stall surface and 1.68 m from the inside of the rear curb. The brisket board was placed 1.8 m from the inside of the curb and the curb was 0.2 m in height as measured from the floor of the alley. Cows accessed the feed bunk via a post-and-rail barrier. The feeding alley was 3.6 m wide and the alley between the rows was 2.5 m wide. Flooring throughout the pen (including the crossover alley) was grooved concrete. Alleys were cleaned by automatic scrapers every 3 hours and the crossover alley was manually scraped twice a day during morning and afternoon milking.

Groups were housed in the experimental pens for 19 days: first 5 days for group acclimatization at 100% stall stocking density, followed by 7 days in each of 2 stocking density treatments in a crossover experimental design. The treatments were different stocking densities defined as follow: (1) 100% of stocking density: 36 lying stalls for 36 lactating cows (control); and (2) 150% of stocking density: 24 lying stalls for 36 lactating cows (overstocking). Groups were randomly assigned to the treatments order. Stocking density in this study was related specifically to the number of stalls per cow, as feeding space was constant across treatments (0.6 m/cow).

To simulate conditions of overstocking in the 150% stocking density treatment, the access to 12 lying stalls was denied by blocking entry to the stall using chains (according to Krawazel et al., 2012b). The three stalls along the wall plus their adjacent stalls, and the six stalls closest to the water trough (three in the each side of the water trough) were blocked (according to Winckler et al., 2015). A chain (approximately 3.6 meters) was tied up at the entrance of each stall to be blocked, with height between 83.82 and 97.79 cm and locked with a carabiner. Chains were added or removed during the morning milking.

Cows were moved to the experimental pens after morning milking. The first 5 days were for the group acclimatization (as used by Fregonesi et al., 2007b; and Winckler et al., 2015), followed by 7 days period in each treatment. During the group acclimatization period stocking density was 100%. In each treatment period, the 3 first days were for the treatment acclimatization, followed by 4 days of data collection. The days on trial started when a new treatment started and ended after the last day of behavioral data collection.

Cows were identified individually the day before data collection period starts, right after morning milking, on their both sides using unique markings applied with spray marker (Fil Tell Tail Aerosol, NZ). It was remade for the following treatment.

Behavioral Data Collection

Before beginning the experiment, 2 observers were trained for inter-observer reliability to obtain similar results on data recorded from live observations, such as: lying defecation behavior, successful and unsuccessful displacements from the stall and stall use as empty, lying down, standing, or perching ($Kappa = 1.0$). The observer used voice recorder to record all the data, except for latency to lie down.

During the treatment acclimatization period, the observer walked between the experimental pens to habituate the cows to its daily presence.

Instantaneous time sampling was once every 10-min (5-min interval in each pen as the groups were tested 2 per period in 2 adjacent pens) by live observation. The observer walked into the experimental pens from the afternoon milking (moment that experimental cows were in the milking parlor and pens were empty) to 0500 next day, which took around 12 hours of night period (following Winckler et al., 2015). Lying defecation behavior, stall displacements, stall use and latency to lie down after milking were measured.

Two types of lying defecation were recorded: (1) active defecation while a cow was lying down (that means when the observer saw the cow lying and defecating); and (2) feces deposited behind a cow lying down, which were assigned to that cow, with specific features. For the latter type, specific criteria were observed to determine whether the defecation occurred while the cow was lying down: the feces had to be fresh, with less than 50% covered by sand, without hoof prints and shaped looking like a lying defecation. For wet feces, the peak of the feces pile should be in proximity to the cow's anus instead of at the center of the pile; and solid feces should appear cylindrical with one end near the animal's anus, rather than shaped like a disc. Once a lying defecation event was recorded, the observer disturbed the pile of feces with its boot to ensure the feces pile was not counted again during the next observation interval.

To estimate successful stall displacements when a cow left the stall that she was using following contact (butt or push) from another cow was recorded. For unsuccessful stall displacements when a cow did not leave the stall she was using following contact (butt or push) from another cow was recorded. The actor cow and receiver cow identification were also recorded, as well as the posture (as lying, standing or perching) of the receiver cow when she got contact by the actor cow.

To estimate stall use the observer walked from stall 1 to 12 of each row starting in the row adjacent to the back alley, followed by the middle row and in last the feeding alley. Stall use was recorded as empty, lying, perching, standing or sitting. For each event recorded the stall identification was also registered to estimate stall use according to its row in the pen.

To estimate latency to lie down after milking (estimated using the nearest 10-min interval) the time that the cows return from milking was recorded, it means the time that they got back in their pen after been milked.

The observer had 4 breaks of 20 min each every 3 hours in different time along the data collection days.

Statistical Analyses

All the statistical analyzes were performed in SAS (version 9.21; SAS Institute Inc., Cary, NC). The variables tested were: lying defecation events, lying events, perching events (standing with the front hooves on the stall), standing events (with the four hooves on the bed), successful and unsuccessful displacements from the stall, posture of the receiver cow in a displacement event (as lying, perching or standing) and latency to lie down after milking. Descriptive statistics were generated using the MEANS and FREQ procedures for exploratory data analysis. Probability distribution plots were generate using the UNIVARIATE procedure to check extreme outliers and to perform the normality tests.

Different tests were used to compare the variable means of the two levels of freestall availability. Independent group T-Test was conducted using T-TEST Procedure to test the variables that presented normality data: successful and unsuccessful displacements, receiver's cow posture and lying events. Wilcoxon for unpaired data was conducted using NPAR1WAY Procedure to test the variables that did not present normality data: lying defecation events, perching and standing events and latency to lie down after milking. As all the stalls were identified, a two-way table and Chi-Square Test were conducted using FREQ Procedure to test the variables of stall use (to perform all the behaviors observed) based on its row in the pen (adjacent to the feeding alley, middle row or adjacent to the back alley). Poisson regression was conducted using the GENMOD Procedure to test lying defecation events of cows displaced (receiver) and cows that displaced other (actor). Significance was set at $p \leq 0.05$.

RESULTS

Cows showed higher frequency lying defecation events when housed in the control treatment (0.7 ± 1.05 , mean \pm SD) than in overstocking (0.5 ± 0.9 , P -Value = 0.0103, Table 2).

The different stocking densities affected the cows' lying and perching events. Cows showed more events when in the control treatment than overstocked (69.6 ± 12.1 and 62.3 ± 12.8 , P -Value < 0.0001, for lying; 9.5 ± 8.3 and 6.7 ± 6.8 , P -Value = 0.0001 for perching events, Table 2). Standing behavior was not influenced by the treatments (0.4 ± 1.1 and 0.3 ± 0.9 , for control and overstocked, respectively, Table 2).

The latency to lie down after milking was not affected by the treatments (76.04 ± 51.1 and 73.9 ± 54.4 min, in the control and overstocking treatments, respectively, Table 2).

The stocking densities did not influence all the displacement variables. Successful and unsuccessful displacements did not differ between treatments (7.2 ± 6.2 and 22.2 ± 17.6 for successful; 2.2 ± 2.9 and 12.5 ± 11.3 for unsuccessful displacements, in the control and overstocking treatments, respectively, Table 2). The displacement result (as successful or unsuccessful) was not affected by the receiver position (lying or perching), in both stocking density treatments (Table 3). The standing position was not included in this analysis because it was rarely observed.

The number of lying defecation events decreased as increasing the number of times a cow was displaced (receiver cow), in both treatments (P -Value = 0.0047, Estimate = -0.5056, Table 4).

Cows showed higher frequency of two cows using a stall at the same time (perching and lying, or perching and perching) in stalls located at the row adjacent to the feeding alley, than in the other rows (middle and adjacent to the back alley), when in the overstocking

treatment (14 *versus* 32, in the control and overstocking treatments, respectively, *P*-Value = 0.0268, Figure 1).

DISCUSSION

Several studies have reported that overstocking management of freestall housing reduce lying time of dairy cows (Fregonesi et al., 2007b; Krawczel et al., 2012a; Telezhenko et al., 2012; Winckler et al., 2015), which is according to our results. The reduced lying events of overstocked cows explain their lower frequency of lying defecation events, since cows need to be lie down to perform lying defecation behavior.

During experiment, an important behavior was observed when some cows performed lying defecation, the tail lifting. Aland et al. (2002) reported tail lifting during defecation in cows housed in tie-stall, as part of a pattern defecation posture, along with arched back and sometimes hind legs placed a bit apart. In our study the tail lifting during lying defecation sounded like an avoidance of fecal contact. The feces avoidance was investigated by Whistance et al. (2007) during standing defecation of dairy cows, being related to cows that adopted the rounded back posture or walked to remove themselves from freshly deposited feces. In lying defecation, the feces avoidance should be more explored in future studies.

In the control treatment, which offered a higher stall availability by cow, there was a higher frequency of perching behavior, as found by Winckler et al. (2015) also using 100% and 150% of stocking densities. Differently, Fregonesi et al. (2007b) assessing cow behavior in 100, 109, 120, 133, and 150% of stocking density, found no effect of overstocking on perching behavior.

Opposite to found by other authors to date (Fregonesi et al., 2007b; Winckler et al., 2015), in our study the stocking densities had no effect on stalls displacements (both

successful and unsuccessful), which is a way of direct competition. In this sense, the nature of the social interaction of dairy cows should be taken into account, even when there is one stall available per cow (control treatment), they displaced each other to take a specific stall.

Looking at the lying defecation events of cows that displaced others and cows that were displaced (actor and receiver cows), we found that cows displaced more times showed a lower frequency of lying defecation behavior. This may be explained by the greater the number of events a cow was displaced the shorter the time she spent lying down, therefore less time to defecate while lying down.

Winckler et al. (2015) found the interesting fact that receiver position influences the number of displacements (of the total displacements events, 46%, 43% and 12% occurred when the receiver cow was lying, perching and standing, respectively). However, in this study there was no difference for receiver position in the displacements, as well as, the receiver position did not affected the displacement result, as successful or unsuccessful, in both treatments.

It was expected that cows in the overstocking treatment would lie down sooner after milking (Fregonesi et al., 2007b), which was measured at the afternoon milking, as a way of indirect competition for stalls. However, there was no difference between treatments on the latency to lie down after milking. According to Val-Laillet et al. (2008), dairy cows have different motivation to access different resources in the pen. Perhaps in this study there was an individual influence factor of the experimental cows, to access the feed bunk with fresh food or the lying area, even when fewer stalls were available.

Cows in the overstocking treatment, curiously, had a higher frequency for the event of two cows using a stall at the same time (lying and perching, or perching and perching), in the stalls located at the row adjacent to the feeding alley. This result reinforces Keys et al. (1976) findings that dairy cows have preferred locations in the pen to lie down. In this study, this

preference was showed by cows in overstocking condition, sharing a stall adjacent to the feed bunk for two cows.

Overall, the higher stocking density reduced stall use by lying cows, therefore cows showed a low frequency of lying defecation in this treatment. In the same way, cows that were displaced more showed less lying defecation, perhaps by spend less time lying down. Even knowing that lying defecation behavior may be directly related to lying behavior, and both are reduced in overstocking density, the stalls availability in the freestall housing must be adequate to provide resting area and comfort for all the cows.

CONCLUSIONS

In conclusion, overstocking density reduces lying defecation, lying and perching behavior of dairy cows housed in freestall. Competition for stalls and the position of the cow to be displaced were not affected by overstocking in this study. Cows displaced more times have less lying defecation behavior. Overstocking density induces two cows to share a single stall more times when this stall is located in the row adjacent to the feeding alley.

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and UBC Animal Welfare Program for providing scholarship for Livia Galiano Mangilli. We also thank Universidade Estadual de Londrina and members of the staff of the University of British Columbia Dairy Research and Education Centre for their help and cooperation.

REFERENCES

- Aland, A., L. Lidfors and I. Ekesbo. 2002. Diurnal distribution of dairy cow defecation and urination. *Appl Anim Behav Sci.* 78:43–54.
- Bernardi, F., J. Fregonesi, C. Winckler, D. M. Veira, M. A. G. von Keyserlingk and D. M. Weary. 2009. The stall-design paradox: Neck rails increase lameness but improve udder and stall hygiene *J. Dairy Sci.* 92:3074–3080.
- CCAC. 2009. Canadian Council on Animal Care guidelines on: The care and use of farm animals in research, teaching and testing. Canadian Council on Animal Care, Ottawa, ON, Canada.
- DeVries, T. J., M. A. G. von Keyserlingk and K. A. Beauchemin. 2003. *Short Communication: Diurnal Feeding Pattern of Lactating Dairy Cows.* *J. Dairy Sci.* 86: 4079–4082.
- Fregonesi, J. A. and J. D. Leaver. 2001. Behaviour, performance and health indicators of welfare for dairy cows housed in strawyard or cubicle systems. *Livest Sci.* 68:205–216.
- Fregonesi, J. A., D. M. Veira, M. A. G. von Keyserlingk and D. M. Weary. 2007a. Effects of Bedding Quality on Lying Behavior of Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 90:5468–5472.
- Fregonesi, J. A., C. B. Tucker and D. M. Weary. 2007b. Overstocking Reduces Lying Time in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 90:3349–3354.
- Fregonesi, J. A., M. A. G. von Keyserlingk, C. B. Tucker, D. M. Veira and D. M. Weary. 2009. Neck-rail position in the free stall affects standing behavior and udder and stall cleanliness. *J. Dairy Sci.* 92:1979–1985.
- Ito, K., M. A. G. von Keyserlingk, S. J. LeBlanc and D. M. Weary. 2010. Lying behavior as an indicator of lameness in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:3553–3560.
- Keys, J. E. JR., L. W. Smith and B. T. Weinland. 1976. Response of Dairy Cattle Given a Free Choice of Free Stall Location and Three Bedding Materials. *J. Dairy Sci.* 59:1157-1162.
- Krawczel, P. D., C. S. Mooney, H. M. Dann, M. P. Carter, R. E. Butzler, C. S. Ballard and R. J. Grant. 2012b. Effect of alternative models for increasing stocking density on the short-term behavior and hygiene of Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95:2467–2475.
- Krawczel, P. D., L. B. Klaiber, R. E. Butzler, L. M. Klaiber, H. M. Dann, C. S. Mooney and R. J. Grant. 2012a. Short-term increases in stocking density affect the lying and social

- behavior, but not the productivity, of lactating Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95:4298–4308.
- Munksgaard, L., M. B. Jensen, L. J. Pedersen, S. W. Hansen and L. Matthews. 2005. Quantifying behavioural priorities - effects of time constraints on behaviour of dairy cows, *Bos Taurus*. *Appl Anim Behav Sci.* 92:3-14.
- NRC. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
- Robichaud, M. V., A. M. de Passillé, D. Pellerin and J. Rushen. 2011. When and where do dairy cows defecate and urinate. *J. Dairy Sci.* 94:4889–4896.
- Telezhenko, E., M. A. G. von Keyserlingk, A. Talebi and D. M. Weary. 2012. Prevalence of lameness and associated risk factors in Canadian Holstein-Friesian cows housed in freestall barns. *J. Dairy Sci.* 95:3064 – 3069.
- Tucker, C. B., D. M. Weary and D. Fraser. 2005. Influence of Neck-Rail Placement on Free-Stall Preference, Use, and Cleanliness. *J. Dairy Sci.* 88:2730-2737.
- Tucker, C. B., A. R. Rogers, G. A. Verkerk, P. E. Kendall, J. R. Webster and L. R. Matthews. 2007. Effects of shelter and body condition on the behavior and physiology of dairy cattle in winter. *Appl Anim Behav Sci.* 105:1–13.
- Val-Laillet, D., D. M. Veira and M. A. G. von Keyserlingk. 2008. *Short Communication: Dominance in Free-Stall–Housed Dairy Cattle Is Dependent upon Resource*. *J. Dairy Sci.* 91:3922-3926.
- von Keyserlingk, M. A. G., A. Barrientos, K. Ito, E. Galo and D. M. Weary. 2012. Benchmarking cow comfort on North American freestall dairies: management for high-producing Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95:7399–7408.
- Wang, F. X., D. F. Shao, S. L. Li, Y. J. Wang, A. Azarfar and Z. J. Cao. 2016. Effects of stocking density on behavior, productivity, and comfort indices of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 99:3709–3717.
- Whistance, L. K., D. R. Arney, L. A. Sinclair and C. J. C. Phillips. 2007. Defaecation behaviour of dairy cows housed in straw yards or cubicle systems. *Appl Anim Behav Sci.* 105:14–25.
- Winckler, C., C. B. Tucker and D. M. Weary. 2015. Effects of under- and overstocking freestalls on dairy cattle behaviour. *Appl Anim Behav Sci.* 170:14–19.

Table 1. Mean \pm SD for parity, days in milking, days carrying calf, milk yield and previous lying defecation frequency of the experimental groups

	Groups			
	1	2	3	4
Parity	2.6 \pm 1.4	2.6 \pm 1.7	2.3 \pm 1.35	2.6 \pm 1.5
Days in milking	235.7 \pm 59.6	233.1 \pm 58.0	189.2 \pm 67.7	194.9 \pm 76.6
Days carrying calf	121.9 \pm 33.8	114.1 \pm 34.9	63.8 \pm 45.9	54.9 \pm 47.2
Milk yield ¹ (kg/d)	14.8 \pm 4.0	15.4 \pm 6.1	18.1 \pm 5.3	19.1 \pm 4.5
LD ²	1.0 \pm 1.8	0.8 \pm 1.1	1.0 \pm 1.2	1.44 \pm 2.0

¹Daily average corresponding to the experimental period from a projected 305-d of milk production.

²Lying defecation frequency from a previous study, where: 0 means that cows did not show; 1 means that cows showed once; and ≥ 2 means that cows showed two times or more. Each group had 18 cows with 0 LD, 14 cows with 2 LD and 4 cows with 1 LD.

Table 2. Effect of two stocking density treatments¹ on behavior of dairy cows housed in freestall

Variables	Treatment	Mean	Median	SE	Shapiro-Wilk ²	<i>P</i> -Value ³
Lying defecation	Control	0.7	0	0.1	<0.0001	0.0103
	Overstocked	0.5	0	0.1	<0.0001	
Lying	Control	69.6	69	1.0	0.9704	< 0.0001
	Overstocked	62.3	62.5	1.1	0.1193	
Perching	Control	9.5	8	0.7	<0.0001	0.0001
	Overstocked	6.7	5	0.6	<0.0001	
Standing	Control	0.4	0	0.1	<0.0001	0.1766
	Overstocked	0.3	0	0.1	<0.0001	
Latency to lie down after milking	Control	76.04	67	3.1	<0.0001	0.1824
	Overstocked	73.9	59	3.3	<0.0001	
Successful displacement	Control	7.2	7	3.1	0.9410	0.1588
	Overstocked	22.2	23.5	8.8	0.0855	
Unsuccessful displacement	Control	2.2	1.5	1.4	0.2725	0.1655
	Overstocked	12.5	11.5	5.6	0.9394	

¹Control (100%): 36 stalls for 36 cows; and overstocked (150%): 24 stalls for 36 cows.

² $P > 0.05$ indicates that the data follow a normal distribution.

³ $P < 0.05$ indicates significantly different means by T-Test (normal distribution data) or Wilcoxon test (non-normal distribution data).

Table 3. Effect of the receiver position on the displacement result (as successful or unsuccessful) in two stocking density treatments¹, of dairy cows housed in freestall

Variables	Treatments	Mean	Median	SE	Shapiro-Wilk ²	P-Value ³
Successful - lying	Control	2.5	2	1.3	0.4064	0.1007
	Overstocked	9	11	3.1	0.2401	
Unsuccessful - lying	Control	1.75	1	1.2	0.2200	0.3851
	Overstocked	4.2	3	2.4	0.4619	
Successful - perching	Control	4.5	5	1.7	0.8500	0.2463
	Overstocked	13.5	13	6.2	0.8423	
Unsuccessful - perching	Control	0.5	0.5	0.3	0.0239	0.1037
	Overstocked	7.2	7.5	2.9	0.9893	

¹Control (100%): 36 stalls for 36 cows; and overstocked (150%): 24 stalls for 36 cows.

² $P > 0.05$ indicates that the data follow a normal distribution.

³ $P < 0.05$ indicates significantly different means by T-Test (normal distribution data) or Wilcoxon test (non-normal distribution data).

Table 4. Lying defecation and lying behaviors of dairy cows housed in *freestall* according to their role in the displacements (actors and receivers cows)

Variables ¹	95% IC	SE	Estimate	P-Value ²
Lying defecation				
Actor	-0.5352, 0.1248	0.1683	-0.2052	0.2167
Receiver	-0.8799, -0.1313	0.1910	-0.5056	0.0047
Lying				
Actor	-0.0240, 0.0437	0.0173	0.0099	0.5677
Receiver	-0.0300, 0.0364	0.0169	0.0032	0.8496

¹Actor: cows that displace others; receiver: cows that are displaced.

² $P < 0.05$ indicates significantly different means by Poisson regression.

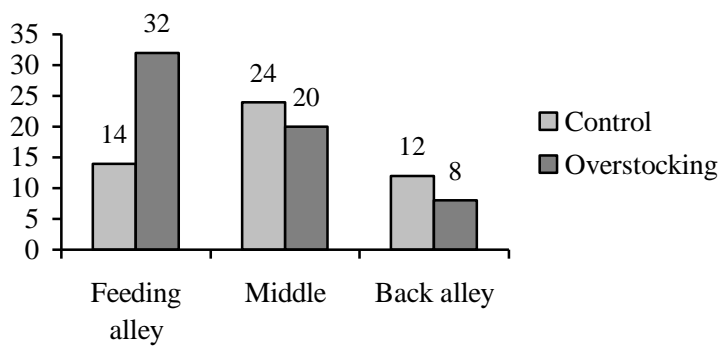


Figure 1. Events of two cows sharing a stall according to the row in the pen, in two stocking density treatments: control (100% - 36 stalls for 36 cows) and overstocked (150% - 24 stalls for 36 cows). *P*-Value = 0.0268 indicates significantly different means by Qui-Square test.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este foi o primeiro estudo que explorou diretamente o comportamento de defecar na posição deitada de vacas leiteiras confinadas em sistema *freestall*. Após ser publicada, esta pesquisa poderá servir como base para outros estudos que objetivem aprofundar o conhecimento sobre este comportamento em vacas leiteiras e melhorar o conforto e bem-estar animal nos sistemas produtivos. Este comportamento tem sido demonstrado por vacas adultas em lactação, criadas confinadas em diferentes tipos de confinamentos, em diferentes frequências.

Fatores intrínsecos e extrínsecos às vacas, como fatores produtivos, ambientais e sociais, podem afetar a expressão e frequência da defecação na posição deitada. Nesta pesquisa, maior nível de produção de leite e maior número de eventos de repouso na posição deitada contribuíram para o aumento deste comportamento. Vacas de alta produção podem defecar na posição deitada a fim de evitar desconforto no úbere, devido aos movimentos de levantar-se e deitar-se novamente. Vacas mantidas em condições de alta densidade animal podem apresentar menor frequência do comportamento de defecar na posição deitada, assim como menos eventos de repouso deitado e em pé com as duas patas anteriores sobre a cama. Vacas deslocadas mais vezes, em deslocamentos na baia individual, apresentam menos eventos de defecação na posição deitada. A alta densidade animal pode induzir duas vacas a compartilhar uma única baia individual, quando esta é localizada na fileira adjacente ao corredor de alimentação.

Para pesquisas futuras sobre o comportamento de defecar na posição deitada em vacas leiteiras, dados sobre frequência de repouso na posição deitada e sua duração, comportamento de evitar o contato corporal com as fezes, sujidade da cama, posição da barra do pescoço e tamanho da baia individual, talvez possam contribuir para novos e importantes achados para o conforto e saúde de vacas leiteiras confinadas em sistema *freestall*.