



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ANDRESSA AMORIM CESTARI

**BEM-ESTAR DE VACAS LEITEIRAS:
PREFERÊNCIA E MOTIVAÇÃO POR ACESSO AO PASTO**

Londrina
2014

ANDRESSA AMORIM CESTARI

**BEM-ESTAR DE VACAS LEITEIRAS:
PREFERÊNCIA E MOTIVAÇÃO POR ACESSO AO PASTO**

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

Orientador: Prof. Dr. José Antônio Fregonesi.

Londrina
2014

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

C422b Cestari, Andressa Amorim.

Bem-estar de vacas leiteiras: preferência e motivação por acesso ao pasto /
Andressa Amorim Cestari. - Londrina, 2014.
135 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, 2014.

Inclui bibliografia.

1. Bovino de leite - Comportamento. – Teses. 2. Bovino de leite - Criação.
– Teses. 3. Pastejo.- Teses. 4. Confinamento (Animais). – Teses. 5.
Agrosilvicultura. – Teses. 6. Produção animal. – Teses. I. Fregonesi, José
Antônio. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias.
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

CDU 636.2:591.5

ANDRESSA AMORIM CESTARI

**BEM-ESTAR DE VACAS LEITEIRAS:
PREFERÊNCIA E MOTIVAÇÃO POR ACESSO AO PASTO**

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

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. José Antônio Fregonesi
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dra. Ana Maria Brid
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Odimári Pricila Pires do Prado
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Andreia De Paula Vieira
Universidade Positivo - UP

Dr. José Antonio Cogo Lançanova
Instituto Agronômico do Paraná - IAPAR

Londrina, 24 de março de 2014.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeriramente a Deus, pelo dom da vida, por ser a força que me sustenta.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina e à Helenice Kieski por sua atenção e dedicação.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de estudo concedida durante a execução deste doutorado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Antônio Fregonesi, por ter aceitado me orientar nesta jornada e, sobretudo, pela amizade construída durante os anos que passaram.

À University of British Columbia e aos professores Marina von Keyserlingk e Daniel M. Weary pela oportunidade de participar de seu renomado grupo de pesquisa.

Ao pesquisador do Instituto Agrônômico do Paraná, Dr. José A. C. Lançanova, por sua preciosa atenção e sempre disponibilidade para realização de trabalhos no IAPAR.

Aos colegas Aska Ujita, Beatriz Rodrigues, Charlotte Gaillard, Davi Botelhos de Frias, Flaviane Medeiros, Giovana Fogaça, Karina Kazue Nakamura, Kathleen Git-Ling Ma, Kathleen Rooney e Tatiane Vito Camilotti. Sem seu auxílio e apoio preciosos, não seria possível a realização desta pesquisa.

Gostaria de agradecer também aos demais funcionários do Centro de Pesquisa e Educação em Bovinos Leiteiros (Dairy Education and Research Centre) da UBC e Estação Experimental Raul Juliatto do IAPAR.

Ao meu esposo Gustavo, pela motivação diária, carinho e amor sem igual.

À minha mãe (Márcia Amorim Cubas) pelo incentivo nos momentos de dificuldade e suporte de todas as formas.

Aos meus avós (José Antônio e Maria de Lourdes *in memoriam*) pelo carinho e incentivo.

A todos que contribuíram para a realização deste projeto, meu sincero obrigada!

Sem sonhos, as perdas se tornam insuportáveis, as
pedras do caminho se tornam montanhas, os
fracassos se transformam em golpes fatais.
Mas, se você tiver grandes sonhos...
Seus erros produzirão crescimento, seus desafios
produzirão oportunidades, seus medos produzirão
coragem.
Por isso, meu ardente desejo é que você nunca
desista dos seus sonhos.

Augusto Cury

CESTARI, Andressa Amorim. Bem-estar de vacas leiteiras: preferência e motivação por acesso ao pasto. 2014. 135p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

RESUMO GERAL

Existem diferentes abordagens possíveis para o estudo do bem-estar animal, sendo as mais comuns: funcionamento biológico, vida natural e estado afetivo. O presente trabalho utilizou testes de preferência e motivação para investigar o estado afetivo e bem-estar de vacas leiteiras em diferentes sistemas de produção. No primeiro experimento um portão com peso foi utilizado para mensurar a força da motivação de vacas em lactação criadas em confinamento, por acesso ao pasto. A motivação por acesso à ração completa misturada oferecida no confinamento serviu como referência para comparações. As vacas empurraram o portão com peso para acesso ao pasto tanto quanto o fizeram para ter acesso à ração completa misturada após a ordenha ($P=0,1958$). O tempo gasto em atividades dentro ou fora do confinamento foi influenciado pela temperatura ambiente ($P=0,002$) e umidade relativa do ar ($P=0,008$). Nos momentos em que o índice de temperatura de globo e umidade (ITGU) estava mais alto, as vacas permaneceram dentro do confinamento ($P<0,001$). Quando estavam no pasto, as vacas gastaram a maior parte do tempo pastejando ($40,6 \pm 19,4\%$). No segundo experimento o mesmo portão foi também utilizado para estudar o efeito de fatores sociais sobre a preferência de vacas por acesso ao pasto. As vacas mostraram-se capazes de aprender a executar a tarefa de empurrar o portão com peso para ter acesso a um determinado recurso e sua motivação por acesso ao pasto foi maior quando associada à companhia de vacas do mesmo grupo social já estabelecido. Vacas foram testadas individualmente e a escolha de acompanhar ou não um grupo familiar, quando este era levado para o pasto, não foi influenciada pela temperatura de globo negro ($P>0,05$), apesar de esta atingir limites superiores aos recomendados para o conforto térmico de vacas leiteiras. No terceiro experimento um teste de preferência foi aplicado entre sistema silvipastoril e uma área convencional, parcialmente sombreada. Vacas leiteiras demonstraram forte preferência pelo sistema silvipastoril, executando a maior parte de seus comportamentos neste ambiente ($P<0,05$). O tempo de pastejo durante as horas mais quentes do dia foi maior no sistema silvipastoril ($P<0,05$). O sistema silvipastoril pode ter favorecido o conforto térmico das vacas, já que o sombreamento proporcionou a manutenção da temperatura ambiente e da superfície corporal dos animais mais próximas das recomendadas, em comparação ao sistema convencional ($P<0,05$). Porém, a pastagem no sistema convencional apresentou maior proporção de folhas em comparação ao silvipastoril ($P<0,05$). Futuros testes devem ser aplicados procurando elucidar quais componentes, nos diferentes sistemas de produção, influenciam a preferência e motivação dos animais. Assim, será possível desenvolver ambientes de criação que favoreçam, além do produtor rural, os animais.

Palavras-chave: vaca leiteira, comportamento natural, estado afetivo

CESTARI, Andressa Amorim. Dairy cow's welfare: preference and motivation for access to pasture. 2014. 135p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

GENERAL ABSTRACT

There are different possible approaches to the study of animal welfare and the most common are: biological functioning, natural life and affective states. The present study used preference and motivation tests to investigate the affective states and welfare of dairy cows in different production systems. In the first experiment a push-weighted gate was used to measure the strength of motivation of lactating dairy cows raised in a free-stall housing, for access to pasture. The motivation for access to total mixed ration (TMR) offered indoors was used as a reference for comparisons. Cows pushed the weighted-gate for access to pasture as much as they did to have access to the complete mixed ration after milking ($P=0.1958$). Time spent outdoors or indoors was influenced by environment temperature ($P=0.002$) and relative humidity ($P=0.008$). When black globe and humidity index was higher, cows remained in the free-stall housing ($P<0.001$) and while on pasture, cows spent most of their time grazing ($40.6 \pm 19.4\%$). In the second experiment the same gate was used to study the effect of social constraints on the preference of cows for access to pasture. Cows were able to learn the task of pushing a gate to gain access to a particular resource and motivation for access to pasture was greater when paired with social companions. Cows were individually tested and the choice to follow or not a familiar group, when it was taken to pasture, was not influenced by black globe temperature ($P>0.05$), although it reached upper limits to the recommended thermal comfort of dairy cows. In the third experiment a preference test was applied between a silvopastoral system and a conventional system partially shaded. Dairy cows showed a strong preference for the silvopastoral system, running most of their behavior in this environment ($P<0.05$). Grazing time during the hottest hours of the day was greater in the silvopastoral system ($P<0.05$). The silvopastoral system may have favored cows' thermal comfort since the shading maintained the ambient temperature and body surface temperature of animals closer to the recommended compared to the conventional system ($P<0.05$). Pasture in the conventional system showed a higher proportion of leaves compared to silvopastoral ($P<0.05$). Future tests should be applied in order to clarify which components in different production systems influence the preference and motivation of animals. Thus it would be possible to create environments which, in addition to the farmer, the animals' welfare is taken into account.

Key words: dairy cow, natural behavior, affective state

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1. Modelo conceitual ilustrando problemas que podem surgir quando as adaptações do animal não são perfeitamente ajustadas aos desafios que enfrenta, nas circunstâncias em que é mantido..... 15

ARTIGO 1 – Motivation for access to pasture in dairy cows

Figure 1. Push-gate used to test cows motivation to access TMR and pasture. 68

Figure 2. Number of cows (n = 22) pushing the gate to access fresh TMR after milking and pasture according to the weight (kg) placed on it..... 68

Figure 3. Difference of weight (kg) pushed on the gate by each cow (n = 22) during the tests to access fresh TMR after milking and to access pasture. 68

ARTIGO 2 – Social constraints affect motivation to work for access to pasture in dairy cows

Figure 1. Push-gate used to test cows motivation to access TMR and pasture. 90

Figure 2. Number of cows pushing the gate to access pasture paired with familiar and unfamiliar social partners. 90

Figure 3. Number of cows attempting to push the gate (without success) to access pasture paired with familiar and unfamiliar social partners. 90

ARTIGO 3 – Bem-estar a preferência de vacas leiteiras entre sistema com pastagem parcialmente sombreada e silvipastoril

Figura 1. Porcentagem de vacas pastejando no sistema silvipastoril (SSP) e sistema convencional (SC) das 9:00 às 19:00..... 106

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1 – Motivation for access to pasture in dairy cows

Table 1. Behaviors observed outdoors when cows successfully pushed the gate with different weights. 69

ARTIGO 2 – Social constraints affect motivation to work for access to pasture in dairy cows

Table 1. Amount of weight (kg) placed on the gate for access to pasture for each cow tested, according to the maximum weight pushed during the TMR test..... 91

ARTIGO 3 – Bem-estar a preferência de vacas leiteiras entre sistema com pastagem parcialmente sombreada e silvipastoril

Tabela 1. Tempo (%) gasto por vacas em lactação em diferentes comportamentos, durante teste de preferência (fase de livre escolha) entre sistema silvipastoril (SSP) e sistema convencional (SC)..... 106

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 BEM-ESTAR ANIMAL	13
2.1.1 Funcionamento Biológico	15
2.1.2 Vida Natural	17
2.1.3 Estado Afetivo	19
2.2 TESTES DE PREFERÊNCIA E MOTIVAÇÃO	21
2.2.1 Testes de Preferência	21
2.2.2 Testes de Motivação	25
2.3 BEM-ESTAR DE BOVINOS LEITEIROS EM DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO	29
2.3.1 Produção de Bovinos em Confinamento	29
2.3.2 Produção a Pasto e o Sistema Silvipastoril	32
2.4 REFERÊNCIAS	35
3 OBJETIVOS	49
4 ARTIGO 1 – Motivation for access to pasture in dairy cows.....	50
*O artigo será submetido para publicação na revista <i>Journal of Dairy Science</i> .	
ABSTRACT	50
INTRODUCTION	51
MATERIALS AND METHODS.....	54
RESULTS.....	60
DISCUSSION.....	61
CONCLUSION.....	64
ACKNOWLEDGMENTS	64
REFERENCES	65
5 ARTIGO 2 – Social constraints affect motivation to work for access to pasture in dairy cows	74
*O artigo será submetido para publicação na revista <i>Journal of Dairy Science</i> .	
ABSTRACT	74
INTRODUCTION	75

MATERIALS AND METHODS.....	77
RESULTS.....	82
DISCUSSION.....	83
CONCLUSION.....	85
ACKNOWLEDGMENTS.....	86
REFERENCES.....	86
6 ARTIGO 3 – Bem-estar e preferência de vacas leiteiras entre sistema com pastagem parcialmente sombreada e silvipastoril.....	96
Resumo.....	96
Introdução.....	97
Material e Métodos.....	98
Resultados e Discussão.....	100
Conclusões.....	102
Referências.....	102
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	109
ANEXOS.....	110

1 INTRODUÇÃO

A crescente preocupação com o bem-estar animal é notável nos dias de hoje. Esta preocupação desenvolveu-se a partir da segunda metade do século XX, quando foi possível observar profunda mudança nas atitudes humanas em relação aos animais, especialmente nos países europeus e de língua inglesa (FRASER, 2008). E, foi neste período que a ciência “mandatória” do bem-estar animal surgiu. Assim chamada por ter inicialmente o intuito de responder a questões públicas e de interesse ético da sociedade.

Três abordagens são as mais comuns para o estudo do bem-estar animal: funcionamento biológico, vida natural e estado afetivo (FRASER et al., 1997) e a importância dada a cada uma delas está geralmente relacionada a valores e princípios (FRASER, 2008).

O funcionamento biológico está relacionado à saúde do animal, ausência de lesões e problemas reprodutivos. Uma boa saúde geralmente está relacionada a elevado grau de bem-estar, porém indicadores de saúde isolados não são bons indicadores de bem-estar animal (von KEYSERLINGK et al., 2009).

A vida natural está ligada à possibilidade de oferecer a vacas criadas em confinamento, por exemplo, a possibilidade de ter acesso ao pasto (ao menos durante um determinado período do ano) para expressar comportamentos naturais como pastear e explorar (FALK et al., 2012). Estudos têm mostrado que dar oportunidade para que animais executem comportamentos ou adotem posturas mais naturais através de alterações benéficas no manejo e desenho de sistemas de produção, mesmo quando essas mudanças não fazem com que o sistema pareça mais natural, pode ser benéfico para a saúde e bem-estar animal (BERNARDI et al., 2009).

Já os estados afetivos são parte integrante da subjetividade. Segundo Kirkden e Pajor (2006), existem evidências científicas suficientes para se acreditar que os animais, pelo menos os vertebrados, são seres sencientes, isto é, que têm capacidade de sofrer, sentir prazer ou felicidade similar aos sentimentos humanos. Porém, os estados afetivos não podem ser observados diretamente, precisam ser interpretados a partir de efeitos gerados sobre os animais (BROOM, 1998; FRASER; DUNCAN, 1998).

Idealmente, para avaliar o bem-estar animal, deve-se incluir as três abordagens citadas (von KEYSERLINGK et al., 2009). E, neste contexto, testes de preferência possibilitam uma avaliação feita sob o ponto de vista do próprio animal. O comportamento e respostas dadas pelo animal em relação às opções testadas, são notificados e quantificados. O teste é constituído por uma primeira fase na qual o animal adquire experiência com as opções

a serem testadas e em seguida uma fase de livre escolha, quando terá livre acesso entre as mesmas.

Já os testes de motivação são complementares aos testes de preferência e podem incluir a fase de livre escolha ou não. Estes testes buscam quantificar a força da preferência, exigindo que os animais realizem uma tarefa ou aprendam a executar uma resposta operante como transpor um obstáculo, apertar um botão ou empurrar uma porta para obter acesso a determinado recurso. O nível de motivação é então obtido a partir da máxima quantidade de trabalho que o animal está disposto a executar (MATTHEWS; LADEWIG, 1994).

Assim, o presente trabalho utilizou testes de preferência e motivação para avaliar o bem-estar de vacas leiteiras, em relação ao ambiente em que são criadas. Os testes foram aplicados entre sistema de confinamento tipo *free-stall* e área de pastagem; e entre sistema silvipastorial e área de pastagem convencional ou pouco sombreada. Este estudo buscou colaborar no desenvolvimento e consolidação desta metodologia para o estudo do bem-estar animal.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 BEM-ESTAR ANIMAL

A partir da segunda metade do século XX foi possível observar profunda mudança nas atitudes humanas em relação aos animais, especialmente nos países europeus e de língua inglesa. Tais mudanças envolveram, por exemplo, aumento da preocupação pública com a caça esportiva de veados na Grã-Bretanha, confinamento de animais selvagens em zoológicos e aquários e também quanto à utilização de animais na pesquisa biomédica. No entanto, foi na agropecuária que as mudanças de atitudes foram mais notáveis, especialmente pelo grande número de animais envolvidos. Após a Segunda Guerra Mundial os sistemas industriais de criação, especialmente em confinamento, foram atacados pelos críticos, os quais alegavam que os animais não poderiam ter uma vida feliz e saudável naquelas condições (FRASER, 2008).

Foi durante esse período de mudanças que a Ciência do Bem-Estar Animal surgiu. Inicialmente como resposta às preocupações públicas e, por este motivo, considerada uma ciência mandatária. Isto é, designada para dar respostas às questões apresentadas pela sociedade.

Para os criadores, a preocupação com o bem-estar dos animais não é uma novidade, levando em consideração que eles sempre procuraram oferecer condições mínimas para que os animais se desenvolvessem adequadamente e gerassem o resultado (lucro) esperado. Nesta tradição de cuidados o bem-estar é normalmente visto como ausência de doenças e lesões (von KEYSERLINGK et al., 2009). No entanto, além desta, outras abordagens são necessárias para a avaliação correta do bem-estar animal.

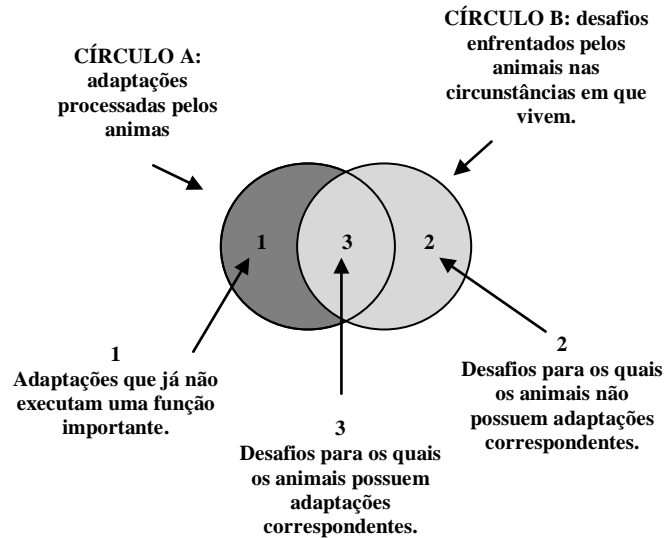
Fraser et al. (1997) afirmaram que ao menos três preocupações éticas que se sobrepõem, são geralmente expressas em relação à qualidade de vida dos animais: funcionamento biológico, vida natural e estado afetivo. O funcionamento biológico refere-se às doenças (ou ausência delas), injúrias, baixas taxas de crescimento e problemas reprodutivos, que são ruins para o animal e também para a lucratividade do sistema produtivo. O estado afetivo envolve aspectos emocionais ou sentimentos do animal, relaciona-se ao sofrimento causado por situações de dor, medo ou fome; ou ainda, estados afetivos positivos como o prazer associado a brincar. Já a vida natural para os animais domésticos refere-se a possibilidade de o animal expressar comportamentos naturais, como pastejar, para os bovinos e fuçar ou rolar na lama, para os suínos. Uma vaca em lactação, por exemplo, incapaz de

encontrar sombra em um dia quente (vida natural), sentirá desconforto devido ao calor (estado afetivo) e poderá mostrar sinais de estresse calórico como hipertermia, ofegar e redução na produção de leite (funcionamento biológico) (von KEYSERLINGK et al., 2009).

A importância dada a cada um dos conceitos citados pode variar entre diferentes indivíduos dependendo de fatores culturais, valores e interesses pessoais, o que tem dificultado o estabelecimento de um conceito único sobre o que é bem-estar animal (FRASER, 2008). Neste sentido, von Keyserlingk et al. (2009) sugerem que os sistemas de criação e manejo dos animais de produção devem atender não somente às necessidades do animal relacionadas ao seu bom funcionamento biológico, mas também outros elementos chave, que são importantes para o público e consumidores em geral. Para os autores, claramente as melhores soluções encontradas são aquelas que inclem os três conceitos apresentados.

Porém, segundo Fraser et al. (1997), nenhum destes três conceitos refere-se de maneira completamente satisfatória às principais preocupações de ordem ética sobre a qualidade de vida dos animais e devem ser melhor contextualizados. Em geral, afirma o autor, se as condições as quais o animal está submetido correspondem intimamente àquelas em que a espécie evoluiu e o indivíduo se desenvolveu, então espera-se mais correspondência entre as adaptações que o animal possui e os desafios que enfrenta no seu ambiente. Porém, para a maioria dos animais em cativeiro ou domesticados, que vivem em ambientes artificiais, espera-se correspondência imperfeita entre as adaptações e desafios enfrentados (Figura 1). Assim, uma classe distinta de problemas deverá surgir e estas incluem a maior parte das preocupações com a qualidade de vida dos animais, que constituem o principal objeto de pesquisa da ciência do bem-estar animal (FRASER et al., 1997).

Figura 1. Modelo conceitual ilustrando problemas que podem surgir quando as adaptações do animal não são perfeitamente ajustadas aos desafios que enfrenta, nas circunstâncias em que é mantido.



Fonte: Redesenhado de Fraser et al. (1997).

2.1.1 Funcionamento Biológico

O funcionamento biológico ou saúde do animal é considerado por muitos o ponto chave para o seu bem-estar, que pode ser então expresso em saúde, ausência de lesões e problemas reprodutivos. Problemas relacionados à saúde dos animais afetam claramente seu bem-estar, na maioria dos casos. Porém, a morbidade e a mortalidade, por exemplo, deveriam ser consideradas apenas como indicadores brutos de saúde e bem-estar (von KEYSERLINGK et al., 2009). De acordo com estes autores é preciso avaliar a saúde dos animais utilizando indicadores mais sensíveis, que sejam adequados para o uso, antes que as doenças sejam clinicamente identificadas. Assim, seria possível reduzir o risco de sofrimento como resultado dessas doenças.

Lesões de casco, por exemplo, ocupam espaço bastante importante em rebanhos bovinos criados em confinamento e os produtores encontram dificuldade para identificar animais nos estágios iniciais da manqueira (WHAY et al., 2003). Parte desta dificuldade está ligada ao fato de os rebanhos serem cada vez maiores e os produtores passarem menos tempo observando todos os animais (TADICH et al., 2010). Então, medidas automatizadas de outros comportamentos gerados a partir das lesões de casco, como tempo que o animal despense em

pé ou em repouso e tempo caminhando, tornam-se necessárias (von KEYSERLINGK et al., 2009).

Nos últimos anos houve aumento no interesse dos pesquisadores por identificar indicadores comportamentais de doenças (MILLMAN, 2007). Segundo von Keyserlingk et al. (2009) os comportamentos demonstrados por animais doentes são parte de uma estratégia coordenada de luta contra a doença. Os autores afirmaram que as mudanças comportamentais atribuíveis à doença são controladas por citocinas do sistema imune. Estes comportamentos parecem então ser parte da resposta imune à doença. Toxinas bacterianas são suficientes para produzir muitas das mudanças comportamentais observadas em bezerros leiteiros durante infecções, como redução da atividade em geral, alimentação e ruminção (BORDERAS et al., 2008).

Quanto aos índices produtivos e reprodutivos e suas relações com o bem-estar animal, comumente se assume que a diminuição destes índices indicam perda de bem-estar, enquanto que o aumento destes geraria ganho de bem-estar. Porém, essas relações não são tão claras quando os animais são selecionados para alto potencial genético, devido a relação antagônica entre o aumento da demanda metabólica e saúde ou funcionamento biológico (von KEYSERLINGK et al., 2009).

Problemas que deprimem o bem-estar de um animal podem gerar baixa produtividade (COLDITZ, 2002). A doença normalmente resulta em baixas taxas de consumo de alimentos, então, os recursos tornam-se limitados e podem ser direcionados para funções imunes ao invés da produção de leite, crescimento ou reprodução, por exemplo (von KEYSERLINGK et al., 2009). Huzzey et al. (2007) estimaram que vacas com metrite produzem em média 8 kg de leite a menos por dia durante as três primeiras semanas de lactação. Neste caso, o declínio na produção de leite está relacionado à ocorrência de uma enfermidade metabólica e pode ser usado como indicador de bem-estar reduzido. Assim como ambientes novos, que causam no animal redução da secreção de ocitocina e consequente redução da produção de leite (BRUCKMAIER; BLUM, 1998).

Porém, muitas das variações na produção de leite por exemplo, não estão relacionadas ao bem-estar das vacas. A produção pode ser influenciada pela nutrição, composição genética e fatores ambientais neutros aos índices de bem-estar, enquanto elevados níveis produtivos podem aumentar o risco de problemas de bem-estar (von KEYSERLINGK et al., 2009). Altas produções entre suínos, aves e bovinos são associadas a um aumento no risco de problemas sanitários (RAUW et al., 1998). Portanto, níveis produtivos altos ou baixos não são bons indicadores de bem-estar, quando tomados isoladamente.

2.1.2 Vida Natural

Este conceito pode causar maior dificuldade para a indústria e produtores. Isso porque pode envolver tomadas de decisões éticas que não estejam necessariamente relacionadas a ganhos econômicos.

Alguns exemplos na literatura mostram como o acesso à pastagem (vida natural ou comportamento natural de pastejar) pode melhorar aspectos ligados à saúde de vacas, como a incidência e prevalência de mastites (WASHBURN et al., 2002) e manqueiras (HERNANDEZ-MENDO et al., 2007). Estes estudos mostraram que proporcionar acesso a condições mais naturais pode ter importantes benefícios para os animais, sob condições corretas.

É comum ouvir que para atingir elevado grau de bem-estar, os animais de produção devem ser livres para expressar seu comportamento natural, como pastar e explorar (HEMSWORTH et al., 1995; BARTUSSEK, 1999). É comum também a afirmação de que quanto mais comportamento natural melhor o bem-estar animal. Em geral, o acesso ao pasto oferece aos animais mais espaço, menos interações negativas e melhor qualidade do ar, além de permitir a realização de comportamentos como caminhar e pastejar (FALK et al., 2012). Porém, a relação entre bem-estar animal e comportamento natural ou vida natural não foi ainda totalmente elucidada pela ciência.

Segundo Spinka (2006), esta demanda é problemática por dois motivos. Primeiro, porque é difícil definir comportamento natural, devido à sua variabilidade e flexibilidade. A maior parte dos elementos comportamentais são variáveis em forma, duração e intensidade e ocorrem em diferentes taxas e combinações sequenciais. Baseados em predisposições genéticas, os animais são guiados por ações combinadas entre estados motivacionais internos e estímulos do ambiente (JENSEN; TOATES, 1993). Segundo, porque alguns comportamentos claramente naturais parecem ser realmente essenciais para o bem-estar, enquanto outros não. Entre os primeiros estão por exemplo o vôo (em aves migratórias), cuja ausência leva o animal ao estado de estresse por não alcançar o objetivo para o qual o comportamento evoluiu. Um outro exemplo seria o de porcas de linhagens modernas, cujo apetite foi intensamente aumentado através de seleção artificial para altas taxas alimentares. Enquanto estão prenhas, sua ração é reduzida a 60% do consumo total *ad libitum*. Mesmo que esta ração seja perfeitamente ajustada à sua manutenção e à gestação, as porcas percebem este manejo como uma ameaça de fome. Consequentemente, elas se envolvem em tentativas intensivas de busca por alimento e, caso esta situação não seja atenuada com o fornecimento

de material fibroso como palha, elas desenvolverão comportamentos anormais repetitivos como morder as barras das baias e mastigação aleatória (LAWRENCE; TERLOW, 1993; SPINKA, 2006).

Então, o conhecimento dos comportamentos para os quais o animal está adaptado, pode facilitar o desenvolvimento de ambientes de criação onde estes possam ser executados. Proporcionar um ambiente adequado aos animais traz diferentes benefícios. De acordo com Spinka (2006), é mais eficaz oferecer meios para que o animal atinja seu potencial produtivo que estejam de acordo com suas adaptações naturais e evolutivas, a fazer com que ele os atinja buscando corrigir falhas em um determinado sistema de produção.

Dadas as modificações genéticas que aconteceram nas espécies, como nos bovinos por exemplo, existe grande dificuldade em definir o que seria vida natural para estes animais (RUSHEN et al., 2008). Jensen e Toates (1993) afirmaram que a medida que certo comportamento é uma necessidade, depende da combinação de uma estrutura motivacional espécie-específica e das condições ambientais atuais. A necessidade do comportamento é um complexo que inclui a obtenção de um objetivo e a realização de um comportamento espécie-específico (normalmente sensível ao *feedback*) na direção do objetivo, e pode ser avaliada considerando-se o que aconteceria caso o comportamento fosse impedido.

Assim, é preciso identificar quais aspectos da vida natural são realmente importantes para os animais, como isto deve ser avaliado e se alguns benefícios podem ser atingidos a partir desse conhecimento (von KEYSERLINGK et al., 2009).

Dar ao animal a possibilidade de escolha entre diferentes opções, parece ser a maneira mais simples de avaliar como os animais vêem e se sentem sobre seu ambiente (FRASER et al., 2008). Nessa abordagem científica permite-se que os animais avaliem as opções que lhes são oferecidas e forneçam ao pesquisador informações sobre o que julgam ser melhor para si próprios. Em algumas situações, oferecer ao animal acesso a opção preferida pode gerar benefícios ao bem-estar (von KEYSERLINGK et al., 2009).

Em um estudo recente, vacas tiveram livre escolha de acessar um galpão de confinamento tipo *free-stall* ou um piquete adjacente composto por pasto (festuca/azevêm/*orchardgrass*) de boa qualidade (LEGRAND et al., 2009). Durante o teste as vacas preferiram o pasto, mas somente a noite, quando a temperatura era amena. Estudos do comportamento natural podem também fornecer conhecimento sobre quais recursos específicos do ambiente são importantes para os animais. Por exemplo, Hernandez-Mendo et al. (2007) observaram que vacas despendem mais tempo em pé quando mantidas no pasto, sugerindo que o acesso a superfícies adequadas desempenha papel importante para permitir

que vacas com problemas nos cascos se recuperem rapidamente. Bernardi et al. (2009) relataram melhora semelhante em vacas com manqueira, após modificar a barra do pescoço das baias em confinamento tipo *free-stall*. Desta forma, as vacas podiam permanecer em uma postura mais natural com as quatro patas sobre a cama, evitando ficar em pé totalmente ou com as patas traseiras no corredor de concreto. Esses trabalhos indicam que ao dar oportunidade para que as vacas executem comportamentos ou adotem posturas mais naturais, através de alterações benéficas no manejo e desenho de sistemas de produção intensivo, mesmo quando essas mudanças não fazem com que o sistema pareça mais natural, pode ser benéfico a saúde e bem-estar animal.

O conhecimento de comportamentos naturais indesejáveis dentro dos sistemas de produção também é considerado importante, para que seja possível aplicar ferramentas e estratégias que provoquem sua redução. Acesso ao alimento fresco e de alto valor energético, por exemplo, são prioritários para os bovinos e está normalmente relacionado com aumento da competição e maior incidência de interações agressivas entre os animais. Porém, trabalhos têm mostrado que modificações simples do ambiente podem reduzir substancialmente o número de agressões. Fornecer mais espaço nos comedouros, instalar divisórias ou evitar a variabilidade da qualidade do alimento ao longo do cocho, diminui a competição, aumenta o tempo de consumo e reduz o número de deslocamentos agressivos entre os animais (DEVRIES; von KEYSERLINGK, 2006).

2.1.3 Estado Afetivo

A vida afetiva é parte integrante da subjetividade. Em muitas situações, para os seres humanos, são os afetos que determinam o comportamento. E, para os animais não é diferente (FRASER, 2008). Assim, o estudo dos estados afetivos constitui uma das questões centrais para o bem-estar animal e uma área ativa desta ciência. Validar medidas desses estados continua sendo um dos desafios mais interessantes dentro da ciência do bem-estar animal (DAWKINS, 2008; von KEYSERLINGK et al., 2009).

Na ciência do bem-estar animal, o estudo do estado afetivo tem se mostrado de grande importância. Harrison (1964) já relatava sua insatisfação quanto aos métodos de produção animal “modernos”, que privam os animais de todo o “prazer da vida”. Também Singer (1990) afirmou que a dor ou o prazer que os animais sentem, devem nos preocupar de modo similar àqueles sentidos pelos humanos. Mesmo os que julgam mais importante para os animais a vida natural ou sua saúde básica e funcionamento biológico, reconhecem que a

experiência destes frente a diferentes situações – suas emoções, sentimentos – são elementos importantes do bem-estar animal.

Muller e Schrader (2005) evidenciaram que apesar do longo período de seleção artificial pelo qual passaram os bovinos, mesmo os animais de produção como vacas leiteiras, existe ainda consistência individual nas respostas comportamentais apresentadas pelos mesmos, o que reflete traços de seu estado afetivo e de personalidade ainda existentes. Porém, os estados afetivos não podem ser observados diretamente, precisam ser identificados a partir de outra evidência. Para os bovinos, o isolamento social tem sido evidenciado como fator estressante bastante evidente, demonstrado pelo nível de exploração, vocalização, micção e aumento na concentração de cortisol na saliva (HOPSTER; BLOKHUIS, 1994; MULLER; SCHRADER, 2005). Gaillard et al. (2014) relataram que o isolamento social de bezerros leiteiros tem consequências negativas que podem ser percebidas no seu desenvolvimento cognitivo.

Outros sinais ou comportamentos podem também indicar diferentes estados afetivos, como o medo. A vigilância, por exemplo, em animais em pastejo, quando estes geralmente se alternam entre comer (com a cabeça abaixada) e em pé (com a cabeça levantada), o que permite a inspeção do ambiente. A imobilidade tônica em galinhas também tem sido comumente considerada um indicador de medo. Na apanha de frangos para o abate, por exemplo, grupos de pessoas fazem a apanha e colocam os animais em caixas para o transporte. Duncan et al. (1986) demonstraram a reação de frangos de corte quando foi utilizada uma colhedeira mecânica. Imediatamente após terem sido pegas, as aves permaneceram em imobilidade tônica por significativamente menos tempo em comparação àquelas capturadas com a colheita manual. A frequência cardíaca das aves também foi monitorada e os valores encontrados foram menores naquelas submetidas à colheita mecânica, mostrando que esta causou menos medo que a colheita manual.

Segundo Fraser (2008), a hipótese principal é que o tipo de comportamento, como a imobilidade tônica ou a vigilância, evoluiu para acompanhar um determinado estado afetivo (nesse caso o medo), pois, de alguma forma, oferece vantagem de sobrevivência e não como um sinal que simplesmente comunica um sentimento para outros animais. E, mesmo se não há nenhum comportamento específico que acompanha um estado afetivo, pode ainda ser possível usar as mudanças gerais na fisiologia (como aumento no ritmo cardíaco) ou na etologia como evidência indireta de que o sentimento está presente.

Molony et al. (1993) estudou o comportamento de cordeiros quando o corte da cauda foi feito cirurgicamente ou com o uso de um elástico que interrompe a circulação local,

causando a morte do tecido. As observações comportamentais revelaram que o uso do anel provocava uma resposta forte: uma hora após sua aplicação os cordeiros mostravam-se agitados e deitavam de uma maneira não comumente observada em outras situações. Os cordeiros submetidos ao procedimento cirúrgico foram menos responsivos, assim, os pesquisadores concluíram que o anel elástico causava mais dor aos cordeiros. Lester et al. (1996) repetiram este estudo, medindo também o nível de cortisol sanguíneo. Estes pesquisadores afirmaram que ambos os procedimentos causavam alterações comportamentais e que estas, por serem diferentes, não poderiam ser comparadas. Quanto ao nível sanguíneo de cortisol plasmático, ambos os grupos apresentaram aumento acentuado após o procedimento. No entanto, no método do anel elástico, o nível retornava ao normal logo em seguida, enquanto nos animais que sofreram procedimento cirúrgico, permanecia elevado por cerca de quatro horas. Então, os pesquisadores afirmaram que a cirurgia causava angústia maior e mais prolongada.

Os estados afetivos positivos e negativos são processos distintos (FRASER, 2008) e o estudo científico dos estados afetivos positivos é ainda mais complexo e pouco desenvolvido. Berridge (1996) mostrou que os animais têm dois tipos de motivação para o alimento (a fome *versus* a palatabilidade). Essa visão de motivação sugere que o sentimento positivo provavelmente é acompanhado por atividades comportamentais que contribuem para o vigor físico em longo prazo, como limpar-se, explorar, comportamentos sociais, entre outros. Assim, fornecer condições para esse tipo de comportamento (enriquecendo o ambiente, por exemplo), poderia contribuir para o bem-estar animal pela promoção dos sentimentos positivos.

2.2 TESTES DE PREFERÊNCIA E MOTIVAÇÃO

2.2.1 Testes de Preferência

Nos últimos 30 anos houve crescente aumento no interesse dos cientistas por estudar experiências subjetivas dos animais. Segundo Kirkden e Pajor (2006), existem evidências científicas suficientes para se acreditar que os animais, pelo menos os vertebrados, são seres sencientes, isto é, que têm capacidade de sofrer, sentir prazer ou felicidade similar aos sentimentos humanos, e o estudo desses sentimentos é um ponto central para que possamos inferir sobre o bem-estar animal.

É amplamente sugerido que pelo menos alguns estados afetivos geram efeito sobre os comportamentos (BROOM, 1998; FRASER; DUNCAN, 1998) e, portanto, eles têm efeitos observáveis ou consequências que podem ser avaliadas dando aos animais algum controle sobre o seu ambiente e observando suas escolhas e decisões, através de testes de preferência (KIRKDEN; PAJOR, 2006).

Os testes de preferência possibilitam uma avaliação feita sob o ponto de vista do próprio animal. São compostos por duas fases: a) fase restrita, na qual o animal tem acesso a apenas uma das opções testadas; b) fase de livre escolha, quando o animal tem livre acesso entre as opções testadas. Nestes estudos é essencial assumir que os animais fazem escolhas relacionadas aos seus interesses e necessidades e que o conhecimento da preferência demonstrada ajudará a entender e melhorar seu bem-estar (FRASER; MATTHEWS, 1997).

O estudo do comportamento animal em ambientes naturais foi um importante precursor desse tipo de teste. O fato de que galinhas selvagens empoleiravam-se em galhos, por exemplo, sugere o tipo de ambiente que as galinhas domésticas preferem. Fraser and Matthews (1997) descreveram um estudo tradicional do comportamento de ratos de laboratório, no qual o movimento destes animais foi monitorado em um labirinto onde comida, água, material para o ninho e outros estavam disponíveis em diferentes compartimentos. O mecanismo foi usado para descrever como a exploração, a alimentação e outros comportamentos são influenciados por privação, diferenças genéticas e diferentes fases do ciclo produtivo. Métodos semelhantes são atualmente aplicados para responder às questões da ciência do bem-estar de diferentes espécies (KIRKDEN, PAJOR 2006; WICHMAN, KELING, 2008; PATTERSON-KANE et al., 2011).

A proposta formal para estudar a preferência dos animais como componente da pesquisa do bem-estar animal surgiu de um encontro do Parlamento Britânico. O etologista William Homan Thorpe foi um dos membros do *Comitê Brambell* formado no Reino Unido para investigar o bem-estar de animais criados em sistemas intensivos. Thorpe (1965) propôs o que se tornou a principal diretriz no uso da ciência para solucionar questões do bem-estar animal. Ele mencionou estudos fisiológicos do estresse, indicadores de dor e desconforto, estudos de motivação em animais de confinamento e estudos da capacidade cognitiva dos animais. Mencionou também a possibilidade de “perguntar” aos animais sobre sua preferência por determinados ambientes. Isto aconteceu após a observação de búfalos africanos que após serem libertados no Parque Nacional de Nairobi, buscavam retornar para os currais onde antes tinham sido mantidos. O comportamento destes animais revelou que o Parque cercado de leões e leopardos, apesar de parecer um ambiente mais natural, não agradou os búfalos, que

preferiam retornar ao seu ambiente de origem. O autor concluiu que, como os animais experienciaram diferentes condições ambientais, seria possível “perguntar” a eles qual delas seria a preferida.

O primeiro experimento real utilizando testes de preferência para resolver um problema de animais de produção, surgiu a partir de uma recomendação específica do *Comitê Brambell*. O comitê concluiu que os materiais usados no piso das gaiolas de galinhas poedeiras eram insatisfatórios. Para obter resposta sob o ponto de vista dos animais, Hughes e Black (1973) testaram a preferência das galinhas por diferentes tipos de pisos, alojando-as em gaiolas contendo duas seções, cada uma com piso de material diferente e observaram quanto tempo as galinhas despendiam em cada seção da gaiola. Os resultados indicaram que as galinhas não demonstravam forte preferência ou aversão aos diferentes materiais testados.

Kirkden e Pajor (2006) relataram que os testes de preferência e motivação são utilizados para responder quatro questões distintas: (1) se um animal está motivado para obter ou evitar um recurso; (2) se a preferência é mais forte por um recurso em comparação a outro; (3) quão forte é esta preferência; (4) se sua preferência, ou força de sua motivação ou preferência, é alterada por mudanças intrínsecas ou extrínsecas.

Atualmente os testes de preferência por determinados ambientes e medidas relacionadas têm sido utilizados para uma ampla variedade de propósitos na ciência do bem-estar animal. Este método tem sido usado para determinar, por exemplo, a preferência por presença de ninhos para galinhas poedeiras (KRUSCHWITZ et al., 2008), tipos de confinamento como *free-stall* e *open pack* (FREGONESI et al., 2009) e tipos de divisórias em sistemas de confinamento para vacas leiteiras (RUUD; BOE, 2011). Alguns autores testaram a preferência de vacas leiteiras por pasto *versus* confinamento (LEGRAND et al., 2009; CHARLTON et al., 2011a), a preferência pasto *versus* confinamento contendo número de baias para repouso inferior ao número de animais (FALK et al., 2012) e ainda a preferência pasto *versus* confinamento quando a mesma ração completa era oferecida no confinamento e também em cochos no pasto (CHARLTON et al., 2011b).

Entretanto, algumas questões controversas inserem-se nos estudos do bem-estar animal que utilizam testes de preferência. A primeira delas seria assegurar que a metodologia identifique e reflita adequadamente a real preferência dos animais, o que exige atenção a muitos pontos sobre como delinear e conduzir uma pesquisa de preferência.

Uma das primeiras críticas que surgiu aos testes de preferência consiste no fato de que a metodologia empregada pode subestimar a complexidade dos ambientes que um animal

pode preferir resultando em erros na inferência dos diversos fatores envolvidos em determinada preferência.

Parece razoável concluir que uma vaca leiteira preferirá deitar-se em cama composta por serragem seca ao invés de deitar-se em serragem úmida, como concluíram Fregonesi et al. (2007). Porém, os autores indicaram que o mesmo estudo fosse repetido em épocas diferentes do ano, avaliando a influência do clima sobre a escolha do animal (preferência). Em climas mais quentes bovinos mostram preferência por tipos de cama que têm boa condutividade térmica e promovem maior perda térmica (SILANIKOVE et al., 2000).

Leitões jovens, por exemplo, evitam uma superfície para descanso coberta por palha, dependendo se o clima está quente ou frio; a preferência por palha é maior para as fêmeas, próximo ao parto. Momento em que as porcas procuram fazer seu ninho (FRASER, 1985).

Assim, para determinar a preferência, é necessário entender também os fatores que influenciam as escolhas dos animais. De acordo com Fraser e Matthews (1997), experimentos devem ser delineados para monitorar preferências sob uma ampla gama de flutuações do ambiente e das condições dos animais e, também, tornar possível a observação das variações individuais entre animais. Rushen et al. (2008) afirmaram que uma forte preferência por uma determinada opção significa somente que esta é melhor do que a opção alternativa e não pode ser tida como a ideal ou mesmo como a melhor solução para o animal. Apontaram ainda que os testes de preferência detectam como animais classificam várias opções, mas oferecem pouca informação sobre a força da preferência. Então, uma das formas de avaliar o valor relativo de várias alternativas seria medir quanto cada uma é usada quando os animais estão limitados a uma única opção. Por exemplo, Tucker et al. (2003) compararam a preferência de vacas leiteiras criadas em sistema *free-stall*, contendo três tipos de camas e relataram maior preferência por camas mais profundas, que continham maior volume de serragem, durante a fase de 'livre-escolha'. Quando as vacas tiveram acesso somente a uma das opções de cada vez (fase chamada de 'restrita'), elas também passaram mais tempo repousando nas camas mais profundas, indicando a importância do acesso à opção preferida.

O contexto social em que o teste é aplicado pode também influenciar a preferência (RUSHEN et al., 2008). Por exemplo, animais de rebanho como vacas são normalmente testadas em grupo. Nesta situação é essencial que um número suficiente das opções testadas (como baias, por exemplo) seja oferecido, para que todos os animais exerçam sua escolha. Mas, segundo Rushen et al. (2008), mesmo as escolhas dos animais podem não ser independentes. Por exemplo, duas vacas podem ser companheiras e escolher deitarem-se sempre perto uma da outra, independente do tipo de cama oferecido; ou sair para o pasto

somente para acompanhar a primeira a deixar o confinamento, mesmo que esta escolha não reflita sua preferência individual. Então, é possível, dependendo do tipo e objetivo do experimento, que os animais sejam testados individualmente.

Desenhos experimentais também precisam levar em consideração a experiência prévia dos animais, pois estas podem afetar a preferência (LEGRAND et al., 2009). Petherick et al. (1990) relataram que a experiência anterior de galinhas poedeiras com diferentes tipos de pisos influenciou sua escolha. Tucker et al. (2003) relataram influência da experiência prévia de vacas leiteiras na escolha por diferentes tipos de camas.

Deve-se observar também que é possível que animais prefiram uma recompensa imediata comparada à outra igual ou ainda maior, ou melhor, mas a longo prazo (DUNCAN, 1978). Fraser e Matthews (1997) afirmaram que o vínculo entre ambientes preferidos e experiências positivas (que levam a uma determinada escolha em um teste de preferência), pode ser rompido quando os resultados a curto e longo prazo desta escolha estão em conflito.

Assim, qualquer estudo de preferência deve incluir uma grande variedade de comportamentos que possam ser importantes para o animal; cobrir um período completo de 24 horas, idealmente durante vários dias; e garantir que todos os animais tenham ao menos alguma experiência prévia com as opções a serem testadas (LEGRAND et al., 2009). A conclusão geral sobre testes de preferência é que estes mostram melhor resultado quando existem grandes diferenças entre as opções testadas (RUSHEN et al., 2008).

2.2.2 Testes de Motivação

Os testes de motivação são complementares aos testes de preferência, porém diferentes. Testes de preferência focam escolhas feitas entre recursos ou estímulos alternativos e simplesmente os classificam, enquanto os testes de motivação quantificam a força da preferência e não necessariamente oferecem escolha aos animais (FRASER; MATTHEWS, 1997). Assim, além de dar ao animal uma escolha, é pertinente impor um custo sobre sua escolha (JENSEN; PEDERSEN, 2008). Ainda, segundo Fraser e Matthews (1997), negar ao animal o acesso à sua opção preferida terá maior efeito sobre seu bem-estar se esta for uma preferência pela qual o animal está mais motivado.

Neste contexto, testes de motivação têm sido aplicados e a motivação para obter um determinado recurso é medida através de uma resposta operante (LADEWIG et al., 2002) como apertar um botão, passar por um obstáculo ou empurrar uma porta. Nesses testes o animal normalmente tem acesso a apenas um ambiente ou recurso de interesse de cada vez e o

local inicial do teste serve como referência ou controle. Os animais têm então que executar uma tarefa ou passar por um obstáculo para obter ou ter acesso a uma opção preferida. Caso a tarefa seja cumprida ou o obstáculo seja ultrapassado, isso demonstra que a motivação existe. O nível de motivação é então obtido a partir da máxima quantidade de trabalho que o animal está disposto a executar (MATTHEWS; LADEWIG, 1994).

Como descrito por Fraser e Matthews (1997) e Ladewig et al. (2002), recursos muito importantes para os animais devem apresentar demanda relativamente inelástica, conceito usado por economistas e relatado por Dawkins (1990) como chave para o estudo do bem-estar animal. Isto significa que um animal deverá “trabalhar” ou “pagar” o quanto for necessário para manter um nível constante de uma determinada recompensa, caso ela seja importante.

Assim, o máximo esforço que o animal completa é uma medida direta que estima o valor que ele agrega a determinado recurso (KIRKDEN; PAJOR, 2006). Ao estabelecer o nível de esforço que um animal está disposto a empregar para obter ou manter determinado recurso, torna-se mais fácil conhecer a importância que este animal dá ao alimento, à companhia, cama e exercícios e outros recursos de seu ambiente (FRASER; MATTHEWS, 1997). No entanto, tais experimentos não estabelecem escalas quantitativas para comparar a força de diferentes preferências (DAWKINS, 1983).

Para quantificar o custo para o animal (isto é, qual sua percepção de dificuldade da resposta operante utilizada no teste) é também necessário usar como comparativo um outro recurso de valor conhecido; e, quando comparar motivações positivas, usar um recurso que não seja um substituto para aquele em estudo. Por exemplo, uma comparação entre acesso a camas ou contato social não pode identificar se a motivação pela cama é forte caso o valor da motivação por contato social seja desconhecida. Assim, testes de motivação devem comparar o recurso em teste com um outro que não o substitua e de valor conhecido (KIRKDEN; PAJOR, 2006).

Poucos são os exemplos de testes de motivação com bovinos, a maioria envolve outras espécies.

Dawkins (1983) utilizou esta metodologia para testar a motivação de galinhas poedeiras por acesso ao banho de areia. A autora relatou que galinhas recém-alimentadas mostraram forte preferência por entrar em uma gaiola sem alimento, mas contendo areia (onde poderiam “banhar-se”), em comparação à outra com alimento, mas com piso de arame liso. Neste caso, deixar de se alimentar foi o “custo” que as galinhas estavam dispostas a pagar, para ter acesso à areia. No entanto, quando as galinhas foram privadas do alimento por

três horas antes do teste, a preferência mostrada não foi clara e, após 12 horas de restrição alimentar, a preferência foi inversa.

Petherick e Rutter (1990) utilizaram uma porta controlada por sistema eletrônico para medir a motivação de galinhas domésticas para ter acesso ao alimento. Hughes e Duncan (1988) também utilizaram um método similar para medir a motivação de galinhas para ter acesso ao ninho para botar ovos. Os autores concluíram que esta metodologia fornece conhecimento sobre o que os animais devem estar sentindo, o que é de extrema importância para o estudo do seu bem-estar.

A motivação de vacas por acesso à silagem foi testada por Champion e Matthews (2007), utilizando um sistema automático. Os autores mediram o número de vezes que as vacas estavam dispostas a percorrer uma distância de 40 metros, para obter alimento. O tempo de consumo e o retorno dos animais ao ponto de início do teste, foi conduzido por uma cerca elétrica controlada eletronicamente.

Jensen et al. (2004) quantificaram a motivação de novilhas leiteiras por repouso. As novilhas foram mantidas em baias que permitiam que elas fossem presas de forma que não podiam se deitar. Um painel eletrônico foi posicionado na frente de cada animal e este deveria ser pressionado determinadas vezes para que o dispositivo fosse liberado e, assim, a novilha pudesse repousar.

Outros testes foram utilizados para medir a motivação de vacas e ovinos por alimento. A motivação foi medida de acordo com a máxima distância percorrida para obter comida quando os animais foram expostos a diferentes níveis de restrição alimentar (SCHÜTZ, 2006; VERBEEK et al., 2011). A distância percorrida por vacas leiteiras criadas em confinamento, também foi utilizada para medir sua motivação para o acesso ao pasto (CHARLTON et al., 2013). Wichman e Keeling (2008) utilizaram uma porta como sistema operante para estudar a motivação de galinhas de postura adultas para ter acesso ao banho de areia e Galhardo et al. (2011) utilizaram o mesmo sistema para avaliar a motivação de peixes, para ter acesso a um compartimento com areia.

Medidas de motivação podem também ser aplicadas a situações que os animais desejam evitar ou escapar. Deve-se observar sinais de privação, frustração ou angústia quando um animal está confinado ou submetido a um tratamento aversivo (KIRKDEN; PAJOR, 2006). De acordo com Fraser e Matthews (1997), alguns veterinários afirmaram que a eletroimobilização reduz o estresse que ovinos experimentam durante sua contenção para realização de diferentes procedimentos. Então, Rushen (1986) utilizou um teste de aversão para medir as implicações da utilização deste método no bem-estar de ovelhas. Os animais foram treinados

para percorrer um corredor até um curral onde seriam contidas de diferentes formas, com e sem a utilização da eletro-imobilização. O autor relatou que, após várias repetições do teste, os animais que eram submetidos à eletro-imobilização, tornaram-se mais relutantes em percorrer o corredor; diferente daqueles que eram contidos sem a utilização do equipamento.

No entanto, como nos testes de preferência, existem críticas e preocupações que devem ser levadas em consideração para correta execução dos testes de motivação. Um dos fatores mais importantes consiste no fato de que certas respostas ou instrumentos são apropriados para certas recompensas, mas não para outras, isso devido à predisposição inata para associar respostas com determinadas tarefas (FRASER; MATTHEWS, 1997; KIRKDEN; PAJOR, 2006). Para galinhas é natural procurar alimento bicando e entrar em uma nova área caminhando. Entretanto, no estudo de Lagadic e Faure (1987), galinhas tinham que bicar uma chave para ativar uma barreira motorizada que ampliaria o tamanho de suas gaiolas. Questionou-se então, se o resultado realmente refletiu a motivação das galinhas por espaço adicional ou se os resultados foram influenciados pela maneira como a preferência é expressa. Assim, diferentes métodos precisam ser cuidadosamente investigados e validados.

Pedersen et al. (2002) relataram que o isolamento social pode influenciar a motivação. Os testes de motivação normalmente testam os animais isoladamente, devido às dificuldades práticas de distinguir respostas dadas por diferentes indivíduos e para garantir que o animal correto receba o recurso ou recompensa. Porém, outros estudos obtiveram bons resultados testando indivíduos dentro de seus grupos (SHERWIN, 2003, 2004).

Apesar das dificuldades práticas para execução dos testes de preferência, motivação e também de aversão, Kirkden e Pajor (2006) elencaram vários pontos positivos com relação à sua aplicação em comparação a outras abordagens para o estudo do bem-estar animal: permitem que os animais expressem suas próprias prioridades; são testes altamente sensíveis a diferenças entre tratamentos; são em geral de fácil interpretação e realização; os métodos projetados para definir a força da motivação são capazes de verificar se a privação ou estímulo são graves o suficiente para causar sofrimento e para mapear os diferentes níveis de recursos quanto ao seu efeito sobre o bem-estar; os testes de aversão são capazes de comparar amplamente diferentes tratamentos, embora possa haver dificuldade em avaliar tratamentos que afetam a memória ou o desempenho motor; as medidas de preferência e motivação refletem como um animal se sente sobre o ambiente como um todo e tornam possível estimar o valor líquido deste ambiente, que contém tanto estímulos positivos quanto negativos.

Portanto, se os estímulos do ambiente são controlados, os testes de preferência e motivação podem ser utilizados para avaliar características particulares do ambiente (FRASER; MATTHEWS, 1997).

2.3 BEM-ESTAR DE BOVINOS LEITEIROS EM DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO

2.3.1 Produção de Bovinos em Confinamento

A escolha de um sistema de produção é feita geralmente de acordo com as condições do clima local, custos para construções e mão-de-obra a ser empregada durante a construção e na criação dos animais, além de disponibilidade de material (RUSHEN et al., 2008). Em alguns países os bovinos são, em sua maioria, criados exclusivamente a pasto. Já em países da Europa e também Canadá e Estados Unidos, os animais permanecem confinados durante a maior parte do ano, com ou sem acesso ao pasto durante o verão. Alguns modelos de produção são ainda exclusivamente em confinamento.

Existem vários modelos de confinamento. Os mais comuns na criação de vacas leiteiras são aqueles com camas coletivas (*compost barn* ou *loosing house*) ou camas individuais (*tie stall* e *free-stall*).

Rushen et al. (2008) indicam alguns pontos favoráveis ou não ao bem-estar animal quanto à utilização dos diferentes sistemas de confinamento. No sistema *tie-stall* a vaca fica presa à sua baia, o que lhe assegura um lugar para repouso e competição mínima por alimento, além de possibilitar dieta individualizada. Entretanto, este sistema restringe a movimentação do animal. Caso a ordenha seja feita na própria baia, pode acontecer de a vaca permanecer neste local por meses seguidos. Existe também a falta de oportunidade para contato físico entre os animais, combinada à incapacidade de escapar completamente de animais próximos agressivos. O sistema *compost barn* supera o problema de mobilidade, mas os animais ainda são mantidos em um espaço restrito e a limpeza pode tornar-se um problema. Já os *free-stalls* oferecem certa proteção contra animais dominantes ou agressivos, mas pode haver limitado número de baias para repouso, criando outra forma de concorrência.

Muitos estudos foram realizados na tentativa de comparar o bem-estar de vacas leiteiras nesses diferentes sistemas de confinamento, com especial ênfase no funcionamento biológico ou saúde dos animais. Maior ocorrência de problemas de casco tem sido relatada em sistemas *free-stall* em relação aos *tie-stall* na Suécia (BERGSTEN; HERLIN, 1996) e nos

Estados Unidos (WELLS et al., 1999). Ao contrário, a saúde do úbere é geralmente inferior em sistemas com camas coletivas (FREGONESI; LEAVER, 2001).

Entretanto, a observação apenas dos problemas causados à saúde das vacas não diz muito a respeito dos diferentes tipos de instalações para confinamentos. O tamanho das baias ou tipo de piso dos corredores, assim como o nível de restrição da barra do pescoço, normalmente variam de uma instalação para outra e podem ser fatores que contribuem para a geração de problemas de saúde nos animais. No entanto, estes fatores muitas vezes não são conhecidos ou não são levados em consideração. Por isso, Rushen et al. (2008) sugeriram avaliações mais claras dos efeitos do tipo de confinamento sobre o bem-estar animal, que podem ser obtidas quando consideradas características específicas do ambiente como tipo de piso, baia ou comedouro, avaliadas isoladamente.

Uma forma alternativa de avaliar uma instalação seria estudar o comportamento dos animais. O modelo da baia pode ser avaliado observando-se os padrões apresentados pelos animais ao deitar ou levantar (ANDERSON; ZUBRIGG, 2003). Para avaliar a dimensão da baia, é possível observar a quantidade de espaço que uma vaca ocupa quando se deita ou se levanta. Uma outra forma seria quantificar o tempo de repouso. De acordo com Rushen et al. (2008) para determinar quais medidas são mais apropriadas para determinar o conforto de um animal, é importante entender e definir como este animal se comporta quando está “confortável”, além de ser necessário observá-lo continuamente por vários períodos de 24 horas. Em alguns casos, apontam os autores, é possível reduzir os períodos de observação, dependendo dos comportamento a serem estudados.

Vacas em lactação despendem aproximadamente 8 a 16 horas por dia repousando, o que faz com que a qualidade da superfície de repouso seja um fator importante (HALEY et al., 2001), por influenciar seu comportamento e saúde dos cascos, úbere e jarretes (TUCKER et al., 2003). Ainda, a utilização de materiais orgânicos na cama tem sido relacionada à proliferação de microorganismos e alta incidência de mastite clínica (ELBERS et al., 1997), ao contrário das camas formadas por areia (FAIRCHILD et al., 1982).

Em alguns casos não é utilizada cobertura sobre a cama, ou seja, as vacas repousam sobre o concreto ou ainda pode-se utilizar apenas colchões específicos para este fim. Porém, vacas tendem a permanecer em repouso por mais tempo em superfícies mais macias (TUCKER; WEARY, 2004). Os autores mostraram que o tempo gasto em repouso e o número de eventos de repouso por dia aumentou significativamente com o aumento da quantidade de cama: de $12,3 \pm 0,53$ h. em repouso e $8,5 \pm 0,62$ eventos em 24 h. em colchões

sem cama, para $13,8 \pm 0,53$ h. em repouso e $10,0 \pm 0,62$ eventos em 24 h. por dia, sobre colchões com 7,5 kg de serragem.

O principal impacto de superfícies mais suaves nas camas em confinamentos incide sobre o ato de levantar das vacas, que pode se tornar mais doloroso quando elas têm que apoiar seus “joelhos” sobre o concreto. Rushen et al. (2008) afirmaram que vacas repousando em superfícies mais confortáveis mostraram maior disposição tanto para deitar quanto para levantar. A interpretação deste comportamento como sinal de dor é apoiada pelo fato de que vacas com maior inchaço nos joelhos da frente repousaram por menor tempo em comparação às vacas com menor inchaço nos joelhos. Quanto às lesões nos jarretes, são mais prevalentes em fazendas que utilizam colchões sobre as camas, em comparação aquelas que utilizam camas profundas (com grande volume de areia ou outro material) (WEARY; TASZKUN, 2000; WECHSLER et al., 2000).

De acordo com Rushen et al. (2008) vacas preferem repousar em áreas mais abertas. Barreiras ou divisórias normalmente fazem com que um determinado espaço se torne menos utilizado. Portanto, este constitui um outro ponto importante a ser avaliado no desenho de um confinamento, buscando reais benefícios tanto para o produtor quanto para o animal.

A barra de contenção do pescoço, por exemplo, é utilizada com o objetivo de melhorar a limpeza da cama, já que a vaca fica impedida de ficar em pé com as quatro patas sobre a mesma e, assim, defecar no corredor (FREGONESI et al., 2009). No entanto, sua utilização constitui um paradoxo. Quando colocada na baia de forma muito restritiva a vaca defeca e urina no corredor, mas não consegue ficar em pé com as quatro patas sobre a cama. A vaca fica na cama, com as patas traseiras no corredor, que normalmente tem piso de concreto e é bastante úmido. Este comportamento pode resultar em sérios problemas de casco. Ao contrário, quando a barra do pescoço é usada de maneira permissiva, ou seja, mais distante do corredor, a vaca fica em pé com as quatro patas sobre a cama, mas defeca e urina também sobre a mesma, prejudicando a higiene das baias (FREGONESI et al., 2009; BERNARDI et al., 2009). Fregonesi et al. (2009) afirmaram também que este problema é ainda agravado pela diferença de tamanho dos animais, ou seja, a posição da barra tem efeitos diferentes sobre animais diferentes.

É necessário desenvolver sistemas que ofereçam ambiente adequado para a vaca ficar em pé e uma superfície seca e limpa que promova seu conforto e saúde. O casco da vaca evoluiu principalmente para caminhar em superfícies como o pasto, mas cada vez mais o tempo que estes animais passam no pasto é reduzido. Tucker et al. (2006) e Fregonesi et al. (2004) demonstraram que quando uma superfície mais macia como um piso de borracha é

disponibilizado em frente à área dos comedouros, o tempo que as vacas despendem em pé neste local é aumentado.

A densidade animal em uma instalação também deve ser observada. O aumento da densidade terá efeitos diferentes dependendo se ela resulta da adição de mais animais a uma determinada área, ou pela redução da área disponível a um grupo de animais, porque o número de animais em grupo gera efeitos independente do espaço disponível. Em um grupo grande de animais existem mais indivíduos para lidar, levando a maior variedade nas relações de dominância e mais oportunidades para interações agressivas (RUSHEN et al., 2008).

A disponibilidade dos recursos que podem gerar competição como número de baias e espaço disponível no corredor devem então ser observados, o que não acontece normalmente. Bewley et al. (2001) relataram que somente um terço dos criadores do estado de Wisconsin nos Estados Unidos mantêm seus rebanhos em uma densidade de um animal por baia ou menos, enquanto 15% dos criadores mantêm densidades maiores que 120%. Porém, altas taxas de lotação em confinamento reduzem o tempo de repouso dos animais (FREGONESI et al., 2007) e causam manqueiras e outras lesões de casco (GALINDO; BROOM, 2000).

A maior modificação causada no comportamento consiste no fato de que, em altas taxas de lotação, vacas passam menos tempo em pé sobre as camas e conseqüentemente mais tempo em pé nos corredores; o real efeito desta alteração de comportamento dependerá do tipo de piso da instalação (RUSHEN et al., 2008). Fregonesi e Leaver (2002) relataram não haver efeito sobre o escore de locomoção, escore corporal, limpeza das baias, tempo de ruminação, tempo comendo ou ingestão diária de alimentos quando utilizada densidade na razão de 1:1,14 vacas. Já a disponibilidade de maior espaço no comedouro permitiu maior ingestão, principalmente durante os primeiros 90 min. após o fornecimento da ração fresca. Durante este período, vacas com mais espaço no comedouro aumentaram o tempo nesta área em 24% e este efeito foi ainda mais claro para as vacas subordinadas (DeVRIES et al., 2004).

2.3.2 Produção a Pasto e o Sistema Silvipastoril

Um número crescente da proporção de produtos derivados do leite no mercado mundial origina-se de sistemas de produção a pasto. A demanda dos consumidores por produtos orgânicos é crescente e alguns padrões exigem que vacas criadas em confinamento passem ao menos 120 dias por ano no pasto, atendendo exigências ligadas ao bem-estar destes animais (NATIONAL ORGANIC STANDARDS BOARD, 2005). No Brasil, as áreas de pastagens cultivadas cresceram ao longo das últimas décadas, passando de 29,7 milhões de hectares em

1970 para 105,0 milhões de hectares em 1995. Atualmente a área total de pastagens no país ocupa cerca de 177 milhões de hectares, sendo as pastagens nativas importante fonte de alimentos para os animais (PORFÍRIO-DA-SILVA, 2001).

No entanto, os modelos de produção a pasto tradicionais têm sido considerados extrativistas por explorarem a pastagem de forma errada, causando sua degradação. Macedo (1999) enumerou as fases do processo de degradação que, após a fase produtiva da forragem, incluem a perda de vigor, perda de produtividade e qualidade, o surgimento de invasoras, pragas e doenças, a compactação e a erosão do solo. Esta sequência de acontecimentos pode gerar impactos preocupantes como a eliminação da vegetação original, redução da fertilidade do solo, que causará baixos índices de produtividade, a redução da biodiversidade, degradação do meio ambiente e o empobrecimento do produtor rural.

Assim, surge a necessidade de estabelecer sistemas de produção com bases sustentáveis, que possibilitem a intensificação, visando aumento do produto final, mas que também proporcionem a conservação do meio ambiente aliada a rentabilidade. Por outro lado, é preciso lembrar que, para os bovinos manejados nesses sistemas, a pastagem não é apenas fonte de alimento, mas constitui o ambiente onde estes animais nascem, crescem e se desenvolvem. Porém, animais manejados em pastagem estão expostos a extremas condições climáticas. Broom (1991) afirmou que bem-estar é o estado do organismo durante suas tentativas de se ajustar com o ambiente e, caso este ajuste seja alcançado com muito esforço o bem-estar animal pode estar sendo prejudicado. Portanto, é necessário oferecer recursos e estímulos além da oferta de alimentos, mas que promovam também o bem-estar e facilitem a expressão do seu potencial produtivo.

Nesse contexto, os sistemas silvipastoris seriam então uma alternativa para a produção de bovinos a pasto (PACIULLO et al., 2006; PORFÍRIO-DA-SILVA, 2006). São sistemas diversificados de uso da terra, nos quais cultivos arbóreos são explorados em integração com a pastagem. A introdução do componente arbóreo na atividade pastoril incorpora ao sistema pecuário benefícios ambientais importantes do ponto de vista da sustentabilidade ambiental (ambiência animal, fixação de carbono); da sustentabilidade econômica (poupança verde) e da sustentabilidade social por promover entradas de recursos distribuídas ao longo do tempo (desbastes e colheita final das árvores) (SILVA, 2009).

Com relação à ambiência animal, o sistema silvipastoril pode favorecer a manutenção da temperatura corporal dos animais, dentro dos limites de conforto térmico. A zona de conforto térmico corresponde aos limites de temperatura ambiente entre os quais o animal não necessita mobilizar recursos próprios termorreguladores para se ajustar às condições ambientais

(PEREIRA, 2005). Para *Bos taurus* a temperatura ambiente pode variar entre 0 e 16° C, com limites críticos de -10 e 27° C; para *Bos indicus* entre 10 e 27° C, com limites críticos de 0 e 35° C); já para animais mestiços, estima-se limites de temperatura entre 5 e 31° C (BAÊTA; SOUZA, 1997; PEREIRA, 2005). Bovinos com pelagem mais escura são mais susceptíveis ao calor provocado pela incidência direta da radiação solar do que aqueles de pelagem mais clara (HANSEN, 1990).

As alterações mais comuns em bovinos, apresentadas quando há redução de seu bem-estar por estresse térmico são diminuição da produção de leite e aumento da frequência respiratória (OMINSKI et al., 2002; SPIERS et al., 2004; KENDALL et al., 2007), aumento da sudorese e do batimento cardíaco (ARMSTRONG, 1994), menor ingestão de alimentos (OMINSKI et al., 2002; WEST, 2003), redução da taxa metabólica (ARMSTRONG, 1994), maior susceptibilidade a enfermidades e comprometimento do sistema reprodutivo (LEW et al., 2006; KENDALL et al., 2007). Armstrong (1994) afirmou que carga térmica em excesso pode, em casos extremos, comprometer severamente o bem-estar animal e até resultar em sua morte.

Ainda outros benefícios em potencial têm sido relatados por diferentes autores como a conservação do solo e dos recursos hídricos (SANCHEZ, 2001; DIAS-FILHO; FERREIRA, 2007), o aumento da biodiversidade (DIAS-FILHO; FERREIRA, 2007), melhoria das propriedades químicas do solo e o aumento da atividade microbiana no solo (DURR; RANGEL, 2000), a melhoria do valor nutricional da forragem (PACIULLO et al., 2007), a diversificação de produtos comercializáveis e incremento da renda na propriedade (RIBASKI et al., 2005) e o conforto térmico para os animais (KENDALL et al., 2007).

Bovinos buscam sombra prontamente quando lhes é dado acesso e o sombreamento pode aliviar efeitos negativos do estresse térmico (KENDALL et al., 2006; TUCKER et al., 2008). Existem evidências de que vacas leiteiras valorizam o acesso à sombra em climas quentes, optando por permanecer em pé à sombra ao invés de deitar-se após serem privadas de repouso por 12 horas (SCHÜTZ et al., 2008). Shearer et al. (1991) relataram que vacas preferem sombras de árvores a sombras artificiais, devido à eficiência do bloqueio da radiação solar e evaporação das folhas, que deixa o ambiente ao redor mais fresco.

Silva et al. (2009) afirmaram que o sombreamento por árvores pode reduzir em até 26% a carga de calor sobre animais em pastejo. Alguns autores têm relatado que, especialmente no verão, verifica-se que o percentual de vacas comendo durante as horas mais quentes do dia é maior em ambientes sombreados (McDANIEL; ROARK, 1956; SHULTZ, 1983; SILVA et al., 2009), assim como o tempo diário de ruminação (SHULTZ, 1983). Ainda, vacas leiteiras

passam menor tempo pastejando (PIRES et al., 1998) e mais tempo em pé, procurando aumentar a perda de calor no verão em comparação ao inverno (ARMSTRONG, 1993).

Quando avaliado o comportamento ingestivo de vacas e novilhas mestiças Holandês x Zebu em sistema silvipastoril, autores afirmaram que a provisão de sombra é uma das primeiras medidas a ser usada na modificação do ambiente para proteger o animal da alta incidência da radiação solar e, assim, amenizar o estresse calórico sofrido durante os hábitos ingestivos no decorrer do dia (LEME et al., 2005; SILVA et al., 2009).

No entanto, segundo recomendações de Oliveira et al. (2003), é preciso definir os objetivos do sistema silvipastoril antes de sua implantação, para que ela seja feita de maneira apropriada. É de extrema importância plantar forrageiras medianamente tolerantes à sombra, conhecer suas exigências de manejo e manejar também as árvores para que proporcionem sombra moderada. Deve-se evitar a escolha de árvores que em algum período do ano percam suas folhas; árvores cujos troncos, folhas ou frutos possam significar algum tipo de risco para as vacas, novilhas e bezerras; árvores que possuam copa muito densa, deixando constantemente úmida a área sombreada; árvores que sejam muito lentas em seu crescimento; e árvores que sejam difíceis de serem encontradas e por conseguinte, suas mudas são de valor mais elevado.

Quanto ao arranjo espacial das árvores, não há ainda uma definição clara na literatura. Talvez porque as características particulares de cada propriedade rural precisam ser avaliadas na tomada de decisão para implantação do sistema. Segundo Porfírio-da-Silva (2006) quando as árvores forem dispostas em renques, o espaçamento entre renques pode variar de 14 a 35 m; enquanto o espaçamento entre plantas na linha de 1,5 a 4,0 m. Já no arranjo das árvores em pequenos bosques, o espaçamentos dentro dos bosques pode variar de 2 a 3 m entre árvores (OLIVEIRA et al., 2003). Neste caso, segundo o mesmo, autor, o crescimento do pasto pode ser baixo e pode haver desuniformidade na reciclagem de nutrientes.

2.4 REFERÊNCIAS

ANDERSON, N. G.; ZUBRIGG, K. Auditing cow comfort – video behind barn doors. **Advances in Dairy Technology**, v.15, p.97-114, 2003.

ARMSTRONG, D. V.; WELCHERT, W. T.; WIERSMA, F. **Environmental modification for dairy cattle housing in arid climates: livestock environments**. Saint Joseph: American Society of Agricultural Engineers, p.1223-1231, 1993.

ARMSTRONG, D. V. Heat stress interaction with shade and cooling. **Journal of Dairy Science**, 77:2044–2050, 1994.

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

BARTUSSEK, H. A review of the animal needs index (ANI) for the assessment of animals's well being in the housing systems for Austrian proprietary products and legislation. **Livestock Production Science**, v.61, p.179-192, 1999.

BERGSTEN, C.; HERLIN, A. H. Sole hemorrhages and heel horn erosion in dairy cows: The influence of housing on their prevalence and severity. **Acta Veterinaria Scandinavia**, v.37, p.395-405, 1996.

BERNARDI, F.; FREGONESI, J.; VEIRA, D.M.; WINKLER, C.; von KEYSERLINGK, M.A.G.; WEARY, D.M. The stall design paradox: Neck rails increase lameness but improve udder and stall hygiene. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.3074-3080, 2009.

BERRIDGE, K. C. Food reward: Brain substrates of wanting and liking. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v.20, p.1-25, 1996.

BEWLEY, J.; PALMER, R. W.; JACKSON-SMITH, D. B. Comparison of free-stall barns on modernized Wisconsin dairy farms. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.528-541, 2001.

BORDERAS, T. F.; RUSHEN, J.; de PASSILLÉ, A. M. Behavioral effects of endotoxin-induced fever in dairy calves. **Journal of Animal Science**, v.86, p.2920-2927, 2008.

BROOM, D. M. Animal welfare: concepts and measurement. **Journal of Animal Science**, v.69, p.4167-4175, 1991.

BROOM, D. M. Welfare, stress and the evolution of feelings. **Advances in the study of behavior**, v.27, p.371-403, 1998.

BRUCKMAIER, R. M.; BLUM, J. W. Oxytocin release and milk removal in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.939-949, 1998.

CHAMPION, R. A.; MATTHEWS, L. R. An operant-conditioning technique for the automatic measurement of feeding motivation in cows. **Computers and Electronics in Agriculture**, v.57, p.115-122, 2007.

CHARLTON, G. L.; RUTTER, S. M.; MARTYN, E.; SINCLAIR, L. A. Preference of dairy cows: Indoor cubicle housing with access to a total mixed ration vs. access to pasture. **Applied Animal Behavior Science**, v.130, p.1-9, 2011a.

CHARLTON, G. L.; RUTTER, S. M.; EAST, M.; SINCLAIR, L. A. Effects of providing total mixed rations indoors and on pasture on the behavior of lactating dairy cattle and their preference to be indoors or on pasture. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.3875-3884, 2011b.

CHARLTON, G. L.; RUTTER, S. M.; EAST, M.; SINCLAIR, L. A. The motivation of dairy cows for access to pasture. **Journal of Dairy Science**, v.96, p.4387-4396, 2013.

COLDITZ, I. G. Effects of the immune system on metabolism: Implications for production and disease resistance in livestock. **Livestock Production Science**, v.75, p.257-268, 2002

DAWKINS, M. S. Battery hens name their price: Consumer demand theory and the measurement of ethological "needs". **Animal Behaviour**, v.31, p.1195-1205, 1983.

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.

DAWKINS, M. The science of animal suffering. **International Journal of Behavioural Biology**, v.114, p.937-945, 2008.

DeVRIES, T. J.; von KEYSERLINGK, M. A. G.; WEARY, D. M. Effect of feeding space on the inter-cow distance, aggression, and feeding behavior of free-stall housed Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.1432-1438, 2004.

DeVRIES, T. J.; von KEYSERLINGK, M. A. G. Effects of feeder design on the social and feeding behaviour of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.3522-3531, 2006.

DIAS FILHO, M. B.; FERREIRA, J. N. Barreiras à adoção de sistemas silvipastoris no Brasil. In: Fernandes, E. N.; Pacuillo, D. S.; Castro, C. R. T. de; Muller, M. D.; Arcuri, P. B.; Carneiro, J. da C. (Org.). **Sistemas agrossilvipastoris na América do Sul: desafios e potencialidades**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2007, p.327-340.

DUNCAN, I. J. H. The interpretation of preference tests in animal behaviour. **Applied Animal Ethology**, v.4, p.197-200, 1978.

DUNCAN, I. J. H.; SLEE, G.; KETTLEWELL, P.; BERRY, P.; CARLISLE, A. J. Comparison of the stressfulness of harvesting chickens by machine and by hand. **British Poultry Science**, v.27, p.109-144, 1986.

DURR, P. A.; RANGEL, J. The response of *Panicum maximum* to a simulated subcanopy environment. I. Soil x shade interaction. **Tropical Grasslands**, v.34, p.110-117, 2000.

ELBERS, A. R. W.; MILTENBURG, J. D.; DE LANGE, D.; CRAUWELS, A. P. P.; BARKEMA, H. W.; SCHUKKEN, Y. H. Risk Factors for Clinical Mastitis in a Random Sample of Dairy Herds from the Southern Part of The Netherlands. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.420-426, 1997.

FAIRCHILD, T. P.; Mc ARTHUR, B. J.; MOORE, J. H.; HYLTON, W. E. Coliform counts in various bedding materials. **Journal of Dairy Science**, v.65, p.1029-1035, 1982.

FALK, A. C.; WEARY, D. M.; WINCKLER, C.; von KEYSERLINGK, M. A. G. Preference for pasture versus freestall housing by dairy cattle when stall availability indoors is reduced. **Journal of Dairy Science**, v.95, p. 6409-6415, 2012.

FRASER, D. Selection of bedded and unbedded areas by pigs in relation to environmental temperature and behaviour. **Applied Animal Behaviour Science**, v.14, p.117-126, 1985.

FRASER, D. **Understanding animal welfare: the science in its cultural context**. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2008. 324 p.

FRASER, D.; DUNCAN, I. J. H. 'Pleasures', 'pain' and animal welfare: Toward a natural history of affect. **Animal welfare**, v.7, p.383-396, 1998.

FRASER, D.; MATTHEWS, L. R. Preference and motivation testing. In: APPLEBY, M. C., HUGHES, B. O. **Animal Welfare**. Wallingford, UK: CAB International, 1997. p.159–173.

FRASER, D.; WEARY, D. M. PAJOR, E. A.; MILLIGAN, B. N. A scientific conception of animal welfare that reflects animal concerns. **Animal Welfare**, v.6, p.187-205, 1997.

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.; LEAVER, J. D. Influence of space allowance and milk yield level on behaviour, performance and health of dairy cows housed in strawyard and cubicle systems. **Livestock Production Science**, v.78, p.245-257, 2002.

FREGONESI, J. A.; TUCKER, C. B.; WEARY, D. M.; FLOWER, F. C.; VITTIE, T. Effect of rubber flooring in front of the feed bunk on the behavior of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.1203-1207, 2004.

FREGONESI, J. A.; VEIRA, D. M.; von KEYSERLINGK, M. A. G.; WEARY, D. M. Effects of bedding quality on lying behavior of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.5468-5472, 2007.

FREGONESI, J. A.; von KEYSERLINGK, M. A. G.; TUCKER, C. B.; VEIRA, D. M.; WEARY, D. M. Neck-rail position in the freestall affects standing behavior, udder and stall cleanliness. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.1979-1985, 2009.

GAILLARD, C.; MEAGHER, R. K.; von KEYSERLINGK, M. A. G.; WEARY, D. M. Social housing improves dairy calves' performance in two cognitive tests. **PLoS ONE**, v.9, e90205, 2014.

GALHARDO, L.; ALMEIDA, O.; OLIVEIRA, R. F. Measuring motivations in a cichlid fish: An adaptation of the push-door paradigm. **Applied Animal Behaviour Science**, v.130, p.60-70, 2011.

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

HALEY, D. B.; de PASSILLÉ, A. M.; RUSHEN, J. Assessing cow comfort: effects of two floor types and two tie stall designs on the behaviour of lactating dairy cows. **Applied Animal Behaviour Science**, v.71, p.105-117, 2001.

HANSEN, P. J. Effects of coat colour on physiological responses to solar radiation in Holsteins. **Veterinary Record**, v.127, p.333-334, 1990.

HARRISON, R. **Animal machines: the new factory farming industry**. London: Vincent Stuart Publishers, 1964. 186p.

HEMSWORTH, P. H.; BARNETT, J. L.; BEVERIDGE, L.; MATTHEWS, L. R. The welfare of extensively managed dairy cattle: A review. **Applied Animal Behavior Science**, v.42, p.161-182, 1995.

HERNANDEZ-MENDO, O.; von KEYSERLINGK, M. A. G.; VEIRA, D. M.; WEARY, D. M. Effects of pasture on lameness in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p. 1209-1214, 2007.

HOPSTER, H.; BLOKHUIS, H. J. Consistent individual stress responses of dairy cows during social isolation. **Applied Animal Behavior Science**, v.40, p.83-84, 1994.

HUGHES, B. O.; BLACK, A. J. The preference of domestic hens for different types of battery cages floor. **British Poultry Science**, v.14, p.615-619, 1973.

HUGHES, B. O.; DUNCAN, I. J. H. The notion of ethological “need”, models of motivation and animal welfare. **Animal Behaviour**, v.36, p.1696-1707, 1988.

HUZZEY, J. M.; VEIRA, D. M.; WEARY, D. M.; von KEYSERLINGK, M. A. G. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.3220-3233, 2007.

JENSEN, M. B.; MUNKSGAARD, L.; PEDERSEN, L. J.; LADEWIG, J.; MATTHEWS, L. Prior deprivation and reward duration affect the demand function for rest in dairy heifers. **Applied Animal Behavior Science**, v.88, p.1-11, 2004.

JENSEN, M. B.; PEDERSEN, L. J. Using motivations tests to assess ethological needs and preferences. **Applied Animal Behavior Science**, v.113, p.340-356, 2008.

JENSEN, P.; TOATES, F. M. Who needs’ behavioural needs’—motivational aspects of the needs of animals. **Applied Animal Behavior Science**, v.37, p.161-181, 1993.

KENDALL, P. E.; NIELSEN, P. P.; WEBSTER, J. R.; VERKERK, G. A.; LITTLEJOHN, R. P.; MATTHEWS, L. R. The effects of providing shade to lactating dairy cows in a temperate climate. **Livestock Science**, v.103, p.148–157, 2006.

KENDALL, P. E.; VERKERK, G. A.; WEBSTER, J. R.; TUCKER, C. B. Sprinklers and shade cool cows and reduce insect-avoidance behavior in pasture-based dairy systems. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.3671-3680, 2007.

KIRKDEN, R. D.; PAJOR, E. A. Using preference, motivation and aversion tests to ask scientific questions about animals’ feelings. **Applied Animal Behavior Science**, v.100, p.29-47, 2006.

KRUSCHWITZ, A.; ZUPAN, M.; BUCHWALDER, T.; HUBER-EICHER, B. Nest preference of laying hens (*Gallus gallus domesticus*) and their motivation to gain nest access. **Applied Animal Behaviour Science**, v.112, p.321-330, 2008.

LADWIG, J.; SORENSEN, D. B.; NIELSEN, P. P.; MATTHEWS, L. R. The quantitative measurement of motivation: generation of demand functions under open versus closed economies. **Applied Animal Behavior Science**, v.79, p.325-331, 2002.

LAGADIC, H.; FAURE, J-M. Preferences of domestic hens for cage size and floor types as measured by operant conditioning. **Applied Animal Behaviour Science**, v.19, p.147-155, 1987.

LAWRENCE, A. B.; TERLOW, E. M. C. A review of behavioral factors involved in the development and continued performance of stereotypic behaviors in pigs. **Journal of Animal Science**, v.71, p.2815-2825, 1993.

LEGRAND, A.; von KEYSERLINGK, M. A. G.; WEARY, D. M. Preference and usage of pasture versus free-stall housing by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.3651-3658, 2009.

LEME, T. M. S. P.; PIRES, M. F. A.; VERNEQUE, R. S.; ALVIM, M. J.; AROEIRA, L. J. M. Comportamento de vacas mestiças Holandês x Zebu, em pastagem de *Brachiaria decumbens* em sistema silvipastoril. **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, n.3, p.668-675, 2005.

LESTER, S. J.; MELLOR, D. J.; HOLMES, R. J.; WARD, R. N.; STAFFORD, K. J. Behavioural and cortisol responses of lambs to castration and tailing using different methods. **New Zealand Veterinary Journal**, v.44, p.45-54, 1996.

LEW, B. J.; MEIDAN, R.; WOLFENSON, D. Concentrações hormonais e desenvolvimento follicular em hipertermia sazonal aguda. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.5, p.816-822, 2006.

MACEDO, M. C. M. Degradação de pastagens; conceitos e métodos de recuperação In: SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA DE LEITE NO BRASIL, 1999, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 1999. p.137-150.

MATTHEWS, L. R.; LADEWIG, J. Environmental requirements of pigs measured by behavioural demand functions. **Animal Behaviour**, v.47, p.713-719, 1994.

McDANIEL, A. H.; ROARK, C. B. Performance and grazing habitats of Hereford and Aberdeen-Angus cows and calves on improved pastures ad related to types of shade. **Journal of Animal Science**, v.15, p.59-63, 1956.

MILLMAN, S. T. Sickness behaviour and its relevance to animal welfare assessment at the group level. **Animal Welfare**, v.16, p.123-125, 2007.

MOLONY, V.; KENT, J. E.; ROBERTESON, I. S. Behavioural responses of lambs of three ages in the first three hours after three methods of castration and tail docking. **Research in Veterinary Science**, v.55, p.236-245, 1993.

MÜLLER, R.; SCHRADER, L. Behavioural consistency during social separation and personality in dairy cows. **Behaviour**, v.142, p.1289-1306, 2005.

NATIONAL ORGANIC STANDARDS BOARD. **Crops Committee Recommendation for Guidance Commercial Availability of Organic Seed Adopted by the National Organic Standards Board**. The National Organic Program: USDA, August 16, 2005.

OLIVEIRA, T. K.; FURTADO, S. C.; ANDRADE, C. M. S; FRANKE, I. L. Sugestões para implantação de sistemas silvipastoris. **Embrapa Agroflorestral**: Documento 84. ISSN 0104-9046, 2003.

OMINSKI, K. H.; KENNEDY, A. D.; WITTENBERG, K. M.; MOSHTAGHI-NIA, A. A. Physiological and production responses to feeding schedule in lactating dairy cows exposed to short-term, moderate heat stress. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.730-737, 2002.

PACIULLO, D. S. C.; CARVALHO, C. A. B. de; AROEIRA, L. J. M.; MORENZ, M. J. F.; LOPES, F. C. F.; ROSSIELLO, R. O. P. Morfofisiologia e valor nutritivo do capim-braquiária sob sombreamento natural e a sol pleno. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.573-579, 2007.

PACIULLO, D. S. C.; AROEIRA, L. J. M.; PIRES, M. F. A. Sistemas silvipastoris para a produção de leite. In: PEDREIRA, C. G. S.; MOURA, J. C. de; Da SILVA, S. C.; FARIA, V. P. de (Ed.). **As pastagens e o meio ambiente**. Piracicaba: FEALQ, 2006. p.327-351.

PATTERSON-KANE, E. G.; KIRKDEN, R. D.; PAJOR, E. A. Measuring motivation in swine: the food-metric scale. **Journal of Applied Animal Welfare Science**, v.14, p.175-186, 2011.

PEDERSEN, L. J.; JENSEN, M. B.; HANSEN, S. W.; MUNKSGAARD, L.; LADEWIG, J.; MATTHEWS, L. Social isolation affects the motivation to work for food and straw in pigs as measured by operant conditioning techniques. **Applied Animal Behaviour Science**, v.77, p.295-309, 2002.

PEREIRA, J. C. C. **Fundamentos da bioclimatologia aplicada à produção animal**. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2005. 195p.

PETHERICK, C. J.; DUNCAN, I. J. H.; WADDINGTON, D. Previous experience with different floors influences choice of peat in a Y-maze by domestic fowl. **Applied Animal Behaviour Science**, v.27, p.177-182, 1990.

PETHERICK, C. J.; RUTTER, M. S. Quantifying motivation using a computer-controlled push-door. **Applied Animal Behaviour Science**, v.27, p.159-167, 1990.

PIRES, M. F. A.; VILELA, D.; VERNEQUE, R. S.; TEODORO, R. L. Reflexos do estresse térmico no comportamento de vacas em lactação. In: Simpósio Brasileiro de Ambiência na Produção de Leite, 1998, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: [s.n.], 1998. p.68-102.

PORFÍRIO DA SILVA, V. Arborização de pastagem como prática de manejo ambiental e estratégia para o desenvolvimento sustentável no Paraná. In: CARVALHO, M. M.; ALVIM,

M. J.; CARNEIRO, J. C. [Ed.]. **Sistemas agroflorestais pecuários: opções de sustentabilidade para áreas tropicais e subtropicais**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2001. p.235-255.

PORFIRIO-DA-SILVA, V. Sistemas silvipastoris para a produção de carne. In: PEDREIRA, C. G. S.; MOURA, J. C. de; da SILVA, S. C.; FARIA, V. P. de (Ed.). **As pastagens e o meio ambiente**. Piracicaba: FEALQ, 2006. p.297-326.

RAUW, W. M.; KANIS, E.; NOORDHUIZEN-STASSEN, E. N.; GROMMERS, F. J. Undesirable side effects of selection for high production efficiency in farm animals: A review. **Livestock Production Science**, v.56, p.15–33, 1998.

RIBASKI, J.; DEDECEK, R. A.; MATTEI, V. L.; FLORES, C. A.; VARGAS, A. F. C.; RIBASKI, S. A. G. **Sistemas silvipastoris: estratégias para o desenvolvimento rural sustentável para a metade do sul do estado do Rio Grande do Sul**. Embrapa Florestas: Comunicado Técnico 150. ISSN 1517-5030, 2005.

RUSHEN, J. Aversion of sheep to electro-immobilization and physical restraint. **Applied Animal Behaviour Science**, v.15, p.315-324, 1986.

RUSHEN, J.; de PASSILLÉ, A. M.; von KEYSERLINGK, A. M. G.; WEARY, D. M. **The welfare of cattle**. Dordrecht, The Netherlands: Springer, 2008. 310p.

RUUD, L. E.; BOE, K. E. Flexible and fixed partitions in freestalls – Effects on lying behavior and cow preference. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.4856-4862, 2011.

SÁNCHEZ, M. D. Panorama dos sistemas agroflorestais pecuários na América Latina. In: CARVALHO, M. M.; ALVIM, M. J.; CARNEIRO, J.C. (Ed). **Sistemas agroflorestais pecuários: Opções de sustentabilidade para áreas tropicais e subtropicais**. Juiz de Fora, 2001. p.9-17.

SCHÜTZ, K. E.; DAVISON, D.; MATTHEWS, L. R. Do different levels of moderate feed deprivation in dairy cows affect feeding motivation? **Applied Animal Behavior Science**, v.101, p.253-263, 2006.

SCHÜTZ, K. E.; COX, N. R.; MATTHEWS, L. R. How important is shade to dairy cattle? Choice between shade or lying following different levels of lying deprivation. **Applied Animal Behavior Science**, v.114, p.307–318, 2008.

SHERWIN, C. M. Social context affects the motivation of laboratory mice, *Mus musculus*, to gain access to resources. **Animal Behaviour**, v.66, p.649-655, 2003.

SHERWIN, C. M. The motivation of group-housed laboratory mice, *Mus musculus*, for additional space. **Animal Behaviour**, v.67, p.711-717, 2004.

SHEARER, J. K.; BEEDE, D. K.; BUCKLIN, R. A.; BRAY, D. R. Environmental modifications to reduce heat stress in dairy cattle. **Agri-Practice**, v.12, p.7–18, 1991.

SHULTZ, T. A. Weather and shade effects on cow corral activities. **Journal of Dairy Science**, v.67, p.868-873, 1983.

SILANOKOVE, N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. **Livestock Production Science**, v.67, p.1-18, 2000.

SILVA, V. P. **O sistema silvipastoril e seus benefícios para a sustentabilidade da pecuária.** Disponível em: <http://www.cnpf.embrapa.br/pesquisa/safs/sist_silvipastoril_sust.pdf>. Acesso em 15 out. 2009.

SINGER, P. **Animal Liberation.** 2.ed. New York: Avon Books, 1990. 311p.

SPIERS, D. E.; SPAIN, J. N.; SAMPSON, J. D.; RHOADS, R. P. Use of physiological parameters to predict milk yield and feed intake in heat-stressed dairy cows. **Journal of Thermal Biology**, v.29, p.759-764, 2004.

SPINKA, M. How important is natural behavior in animal farming system? **Applied Animal Behavior Science**, v.100, p.117-128, 2006.

TADICH, N.; FLOR, E. GREEN, L. Associations between hoof lesions and locomotion score in 1098 unsound dairy cows. **The Veterinary Journal**, v.84, p.60-65, 2010.

THORPE, W. H. **The assessment of pain and distress in animals.** *Appendix III in Report of the Technical Committee to Enquire into Welfare of Animals kept under Intensive Livestock Husbandry Systems*, F.W.R. Brambell (chairman). Her Majesty's Stationery Office (HSMO), London, 1965.

TUCKER, C. B.; WEARY, D. M.; FRASER, D. Effects of three types of free-stall surfaces on preferences and stall usage by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.521-529, 2003.

TUCKER, C. B.; WEARY, D. M. Bedding on Geotextile Mattresses: How Much is Needed to Improve Cow Comfort? **Journal of Dairy Science**, v.87, p.2889-2895, 2004.

TUCKER, C. B.; WEARY, D. M.; de PASSILÉ, A. M.; CAMPBELL, B.; RUSHEN, J. Flooring in Front of the Feed Bunk Affects Feeding Behavior and Use of Freestalls by Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p.2065-2071, 2006.

TUCKER, C. B.; ROGERS, A. R.; SCHÜTZ, K. E. Effect of solar radiation on dairy cattle behaviour, use of shade and body temperature in a pasture-based system. **Applied Animal Behavior Science**, v.109, p.141–154, 2008.

VERBEEK, E.; WAAS, J. R.; McLEAY, L.; MATTHEWS, L. R. Measurement of feeding motivation in sheep and effects of food restriction. **Applied Animal Behaviour Science**, v.132, p.121-130, 2011.

von KEYSERLINGK, M. A. G.; RUSHEN, J.; de PASSILLÉ, A. M.; WEARY, D. M. Invited review: The welfare of dairy cattle – Key concepts and the role of science. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.4101-4111, 2009.

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

WASHBURN, S. P., SILVIA, W. J.; BROWN, C. H.; MCDANIEL, B. T.; MCALLISTER, A. J. Trends in reproductive performance in southeastern Holstein and Jersey DHI herds. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.244-251, 2002.

WEARY, D. M.; TASZKUN, I. Hock lesions and free-stall design. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.697-702, 2000.

WECHSLER, B.; SCHAUB, J.; FRIEDLI, K.; HAUSER, R. Behaviour and leg injuries in dairy cows kept in cubicle systems with straw bedding or soft lying mats. **Applied Animal Behaviour Science**, v.69, p.189-197, 2000.

WELLS, S. J.; GARBER, L. P.; WAGNER, B. A. Papillomatous digital dermatitis and associated risk factors in US dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v.38, p.11-24, 1999.

WHAY, H. R.; MAIN, D. C. J.; GREEN, L. E.; WEBSTER, A. J. F. Assessment of the welfare of dairy cattle using animal-based measurements: Direct observations and investigation of farm records. **Veterinary Record**, v.153, p.197-202, 2003.

WICHMAN, A.; KELING, L. J. Hens are motivated to dustbathe in peat irrespective of being reared with or without a suitable dustbathing substrate. **Animal Behaviour**, v.75, p.1525-1533, 2008.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Adequar e desenvolver testes de preferência e motivação, para estudar o bem-estar de vacas leiteiras em diferentes sistemas de produção.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar a motivação de vacas leiteiras criadas em confinamento do tipo *free-stall*, por ração completa após a ordenha e acesso ao pasto.

Estudar a influência de fatores sociais sobre a motivação de vacas leiteiras, em um teste de preferência entre *free-stall* e área de pastagem.

Estudar o comportamento e preferência de vacas leiteiras em um teste de preferência entre sistema silvipastoril *versus* sistema convencional.

1 **4 ARTIGO 1¹**

2

3 **Interpretive Summary: Motivation for access to pasture in dairy cows. Cestari et al. 000-**
4 **000.** Access to pasture is thought to be important for the welfare of dairy cows. This study
5 used a weighted push-gate to measure the strength of motivation of indoor-housed dairy cows
6 for access to pasture and fresh TMR after milking. Cows successfully learned the task.
7 Pasture use was influenced by the time of day and weather conditions. Dairy cows housed
8 indoors are as motivated to access pasture as they are to access fresh TMR after milking.
9

10

11 **MOTIVATION TO ACCESS PASTURE**

12

13 **Motivation for access to pasture in dairy cows**14 A.A. Cestari^{1,2}, J.A. Fregonesi², D.M. Weary¹ and M.A.G von Keyserlingk*¹15 ¹Animal Welfare Program, Faculty of Land and Food Systems, University of British16 Columbia, 2357 Main Mall, Vancouver, V6T1Z4, Canada; ²C.A.R.E. – Cuidado Animal e

17 Responsabilidade Ética, Universidade Estadual de Londrina, Rod. Celso Garcia Cid PR 445

18 Km 380, Campus Universitário, Londrina, 86051-980, Brasil

19

20 Corresponding author's Email: nina@mail.ubc.ca

21

22 **ABSTRACT**

23 Access to pasture is thought to be important for dairy cows' welfare, but few works to date
24 have directly assessed preferences and the strength of motivation for indoor-housed cows to
25 access pasture. This study used a weighted push-gate to measure the strength of motivation
26 for pasture access. Late lactation Holstein dairy cows (n = 24) were randomly assigned to

¹ O artigo foi redigido de acordo com as normas do *Journal of Dairy Science* e será submetido para publicação nesta revista. Anexo 1.

1 four groups. Each of these groups was tested separately in two experiments. In Experiment 1
2 of the study cows were allowed to push a weighted (7 kg) gate after the morning and
3 afternoon milking to access fresh TMR. Once all cows were trained to perform this task the
4 weight was increased daily (in 7 kg increments) until they were no longer willing to perform
5 the task. In Experiment 2 cows were trained to access pasture using the same weighted gate
6 and motivation was assessed in a free-choice test. Again the weight was increased daily until
7 cows refused to perform the task. Cows pushed as much weight for access TMR as for
8 pasture access. During daylight hours cows spent most of their time outdoors (with the
9 remainder spent inside the freestall barn), which should have been conditioned to time of day
10 and environmental factors. The results indicated that dairy cows normally housed indoors are
11 as motivated to access pasture as they are to access fresh TMR after milking. Preference tests
12 and push-gates are appropriate means to test dairy cows' motivation.

13 *Keywords:* preference test, welfare, behavior, operant test

14

15

INTRODUCTION

16

17

18

19

20

21

22

23

24

Society places considerable value on cattle having access to pasture, where they have access to fresh air and freedom to roam naturally (Spinka, 2006). There are also a number of lines of research that have argued that providing access to pasture provides benefits to animal welfare, including reduced incidence of mastitis (Washburn et al., 2002), lameness (Hernandez-Mendo et al., 2007, Chapinal et al., 2013) as well as skin injuries (Barrientos et al., 2013). Other work has shown that improvements in efficiencies are associated with providing cows' access to pasture due to reduced feed and labor costs (Clark and Kanneganti, 1998). Despite the known benefits associated with access to pasture, few studies have looked at the animals' preference for pasture or free-stall housing.

1 Preference tests can be used as a tool to study animal welfare assuming that animals
2 make choices that are in their own best interests (Fraser and Matthews, 1997). Using this
3 experimental paradigm, Legrand et al. (2009) showed that when provided a choice dairy
4 cows preferred to remain indoors during the day, particularly when temperature and humidity
5 were high, but showed a preference for access to pasture during the night. Subsequent work
6 by Charlton et al., (2011a) has reported similar findings with dairy cows overall choosing to
7 remain indoors during the day and outside on pasture during the night. Authors collectively
8 have argued that the indoor environments provide protection from environmental conditions
9 (Legrand et al., 2009; Charlton et al., 2011a), particularly when the season progresses from
10 summer into winter (Krohn et al., 1992) and on days when it rains (Charlton et al., 2011a).

11 High yielding dairy cows spent more time indoors when provided the choice between
12 indoor freestall housing with access to a TMR vs. access to pasture (Charlton et al., 2011a,b).
13 Although the provision of TMR indoors may provide cows the opportunity to easily access
14 food to meet their nutritional requirements (Charlton et al., 2011b; Legrand et al., 2009)
15 providing access to TMR both indoors and on pasture failed to alter the overall preference of
16 pasture by dairy cows (Charlton et al., 2011b). Interestingly, when cows were forced outside
17 on pasture during the night time hours no effect was reported on TMR intake or milk
18 production (Chapinal et al., 2010).

19 Thus, in addition to establishing what an animal prefers, there is need to ascertain the
20 strength of motivation for obtaining access to a desired resource. Furthermore, denying an
21 animal access to preferred options has been argued to be negatively affect welfare (Fraser and
22 Mathews, 1997). Experimental paradigms now exist that provides insight into motivation for
23 access to a specific resource which is an important first step in determining what animals may
24 be feeling.

1 To experimentally assess motivation for access to a specific resource animals are
2 required to perform an operant response; initially learning in order to obtain access to a
3 reward. Once the task is learned the animals are then asked to ‘work’ for access to the reward
4 with increasing amounts of work (price paid); with an increase in price paid equating to
5 increased motivation to gain access to the reward (Kirkden and Pajor, 2006).

6 The amount of work performed to gain access to primary resources, such as food, has
7 been shown to have a relatively inelastic demand function (Fraser and Matthews, 1997). For
8 example, to access feeding motivation Schütz et al. (2006) measured the maximal distance
9 walked to obtain food when cows were exposed to different levels of moderate feed
10 deprivation; not surprisingly cows showed a linear increase with increasing time of feed
11 deprivation. Charlton et al. (2013) exposed cows to 3 different cost levels (walking distances
12 per reward) to assess their motivation for pasture access and reported that during the day time
13 spent at pasture declined as distance increased. Collectively these findings indicate that this
14 experimental approach shows promise for the study of feeding motivation in ruminants.

15 Providing a weighted-door that animals push open in order to gain access to a reward
16 has been successfully used to study motivation for access to a resource in other species.
17 Using an operant system motivation to various resources by laying hens has been assessed,
18 such as to a dust bathing area (Wichman and Keeling 2008), a nest box (Kruschwitz et al.,
19 2008) or food (Petherick and Rutter, 1990).

20 However, to our knowledge no work to date has assessed the strength of motivation
21 for indoor-housed cows to access pasture using a push gate operant system. Thus, the first
22 objective of this experiment was to determine cows’ motivation to access fresh TMR
23 immediately after milking. This was identified as the gold standard. The secondary, objective
24 was to measure the strength of motivation of lactating dairy cows kept in a free-stall housing
25 for pasture access, based on the ‘work requirement’ approach. We hypothesized that cows

1 would push at least an equivalent amount of weight to gain access to pasture as that required
2 to gain access to fresh TMR immediately after milking. Similar work levels to gain access to
3 pasture as that observed for access to the TMR would indicate a high value attached to this
4 resource. Finally we also measured air temperature, dew point and black globe temperature in
5 order to investigate whether climatological parameters would affect the maximal weight
6 pushed on the gate to access pasture. We predicted that cows would push less weight to gain
7 access to pasture when environmental conditions were viewed to be adverse (e.g. excess heat)
8 and that they would push more weight during the night than during the day.

9

10

MATERIALS AND METHODS

11

12

13

14

15

16

Experiment 1

17

18

19

20

21

22

23

24

25

Animals, housing and management – Twenty-four pregnant, late lactation Holstein cows were tested (n = 24 observational units). Cows averaged (mean \pm SD) 220.5 \pm 14.4 DIM, 30.0 \pm 3.8 L of milk/day, 1.4 \pm 0.7 parity, 647.9 \pm 93.3 BW (kg), 3.0 \pm 0.4 BCS (scored from 1 to 5 following Edmonson et al., 1989) and 2.3 \pm 0.3 gait score (scored from 1 to 5 following Flower and Weary, 2006) at the beginning of the study.

Two experimental pens were used in Experiment 1, one containing 12 stalls (pen A) and another with 24 stalls (pen B), each filled with 40 cm of washed river sand raked level twice daily. Pen A and B had a total of 6 and 12 m of accessible feed-alley space respectively, but regardless of pen size feed was delivered over 6 m trough. Both pens were

1 configured in 3 rows separated by a 3.0-m alley: 2 rows faced one another with each stall
2 having a length of 250 cm and the back row faced a cement wall where the stalls were 270
3 cm in length. All stalls were 120 cm wide (center to center of divider partitions). The
4 crossover alleys were scraped manually twice daily and all other alleys cleaned with
5 automatic scrapers 6 times per day. Cows were milked twice daily in a double 12-parallel
6 milking parlor at approximately 0630 and 1700 h. Cows spent on average 30 min/milking in
7 the holding area and milking parlor, and hence away from the home pen.

8 *Apparatus and training period* – A weighted push-gate was used to test cows’
9 motivation (Figure 1). The required force of the cow was controlled changing the amount of
10 weight on the gate.

11 We trained the 12 cows within the group individually twice daily to open the push-
12 gate placed between pens A (without feed) and B (with TMR). In summary after milking,
13 cows were chased back into pen A where food was withheld for approximately 1 h.
14 Individual cows were initially placed in a small area adjacent to the gate for training
15 (described in Table 1). A red wooden square was placed on the gate before starting the
16 training session to aid cows in identifying the correct location to push. Cows were offered a
17 TMR consisting of 21.8% corn silage, 18.6% grass silage, 10.3% alfalfa hay and 49.3%
18 concentrate mash, on a DM basis to *ad libitum* intake. The TMR was composed of 48.2 %
19 DM on average, with 18.5% CP, 31.6% NDF and 18.9% ADF.

20 Cows’ behaviors were recorded using a surveillance camera (Panasonic, CCTV,
21 WV-BP334, Osaka, Japan) installed 3 m over the push gate and connected to a DVR unit
22 (Geovision Inc. Taiwan). During the training period cows’ behaviors were assessed from the
23 video recordings to determine if cows had successfully learned to push the gate initially
24 weighted with 7 kg to gain access to the TMR. Cows were considered fully trained when the

1 gate was successfully pushed in four subsequent training sessions. Only one cow was not able
2 to learn the task.

3 *Testing Period* – Twelve cows were tested in a single session. Cows were chased
4 into pen A immediately after milking, and after a period of approximately 1.5 h feed
5 deprivation, they were required to open the push-gate in order to access the fresh TMR
6 provided at pen B. Fresh TMR was supplied twice daily at approximately 0630 h and 1600 h
7 while cows were in the milking parlor. An additional 7 kg weight was added daily to the
8 initial 7 kg until cows were no longer willing to perform the task. Cows were given 2.5 h to
9 complete the task. Maximum weight pushed was recorded for each individual cow.

10

11 ***Experiment 2***

12 *Animals, housing and management* – The twenty-four cows used in Experiment 1
13 were randomly assigned to four groups of 6 cows each, balanced according to DIM ($220.5 \pm$
14 14.4), milk yield (30.0 ± 3.8 L of milk/day), parity (1.4 ± 0.7), BW (647.9 ± 93.3 kg), BCS
15 (3.0 ± 0.4 ; scored from 1 to 5 following Edmonson et al., 1989) and locomotion score ($2.3 \pm$
16 0.3 ; scored from 1 to 5 following Flower and Weary, 2006). Data are reported as mean \pm SD
17 and did not differ among groups.

18 One experimental free stall pen was used in Experiment 2 (see description of pen B
19 in Experiment 1). The same gate used in Experiment 1 was placed between the experimental
20 pen and the pasture. All cows had previous experience with both pasture and the free-stall
21 housing; housed in a free-stall housing throughout their lactation and housed on pasture as
22 growing heifers or during the previous dry periods (multiparous cows). To ensure that cows
23 were acclimated to the specific pasture used in this experiment, the groups were forced to
24 spend the majority of the day on pasture for 5 consecutive days before the experiment began.
25 Cows were moved to pasture 1.5 h after the morning milking and returned to the freestall just

1 before the afternoon milking, where they remained until the next morning. To reinforce the
2 training of the operant task cows were forced to access pasture (and the free-stall) by pushing
3 the 7 kg weighted-gate. Learning was considered successful when cows pushed the gate twice
4 consecutively; one cow did not succeed the task in this experiment.

5 The pasture used in Experiment 2 consisted of an orchard grass (*Dactylis glomerata*)
6 / Tall fescue (*Festuca arundinacea*) blend. The field was divided into 3 plots (30 m wide by
7 80 m long) used to house groups of 6 cows. Paddocks (30 m wide x 15 m long) were strip
8 grazed using portable electric fences moved daily (during the morning milking) to ensure that
9 the animals always had access to adequate herbage. The distance between the grazing area
10 and the free-stall housing entrance was 12 m. Pasture was sampled 3 times per week
11 according to the method described by Toledo and Schultze-Kraft (1982), before cows entered
12 a new paddock. Sward height was also measured at 20 different points throughout the
13 paddock, with 15 paces between each measurement. Water was provided via a self-filling
14 water trough located at the edge of each plot. Cows were milked twice daily as described in
15 Experiment 1.

16 Each group was tested in a free-choice phase whereby cows were allowed to choose
17 between the indoor free-stall housing or pasture. Cows were prevented from pushing the gate
18 for 1.5 h after each milking to facilitate TMR intake (composition the same as that described
19 in Experiment 1); after this period the gate was released and the test started. On d 1 of the test
20 period a 7 kg weight was placed on the gate; with an additional 7 kg added daily. In cases
21 where all cows within the group failed to successfully push the gate the weight was
22 maintained for one additional day. The test stopped when cows were no longer willing to
23 perform the task for two consecutive days.

24 *Behavioral measures* – Two cameras were positioned facing the feeding area and
25 another one was used to monitor the gate, i.e., when cows left for pasture and came back

1 (WV-BP330, Panasonic, Osaka, Japan). Red lights were used to improve cows' identification
2 during the night hours (2300 to 0445 h when barn lighting was off). Cameras were connected
3 to a video recording system (Genetec Inc., Saint-Laurent, Quebec, Canada). Individual cows
4 were identified with hair dye.

5 Time spent eating the TMR in the free-stall was recorded using continuous sampling
6 24 h / d during the free-choice phase. On d 1 of the test from 0900 to 1500 h and from 1900
7 to 2100 direct visual observations were taken in the pasture in order to determine how the
8 cows spent their time outside. Behaviors were recorded for each cow using 5 min scan
9 sampling, specifically we recorded location, whether the cow was indoors, outdoors or
10 between both areas, posture (lying, standing or grazing) or other (grooming, social
11 interactions, investigating, or playing) (Martin and Bateson, 1993).

12 Lying behavior (total lying time and number of lying bouts) was measured
13 automatically using IceTag Sensors (IceTag and IceTag 3D 1.008, IceRobotics Ltd,
14 Edinburgh, UK). IceTags were attached to the rear leg and removed in the milking parlor
15 during milking, immediately before and after each free-choice phase.

16 *Climatic measures* – Rainfall and wind speed were recorded by the Environment
17 Canada weather station located in in Agassiz. Heat load was measured using a data logger
18 (Reed SD-2010), which recorded air temperature, black globe temperature and relative
19 humidity inside and outside the barn 24 h/d. During the course of the study, the average daily
20 precipitation was 0.3 mm (± 2.4 mm, range from 0 to 47.8 mm/d), the average daily
21 temperature outdoors was 19.3°C (± 8.5 °C, range from 5.6 to 49.5°C), with an average daily
22 variation of 21.9°C (± 11.4 °C). Indoors the daily temperature averaged 19.0°C (± 4.5 °C, range
23 from 8.8 to 30.2 °C), with an average daily variation of 11.9°C (± 3.9 °C). The average wind
24 speed was 1.2m/s (± 1.1 m/s, range from 0.0 to 6.9 m/s). Black Globe Humidity Index (BGHI)
25 was calculated following the equation provided by Buffington et al. (1981): $BGHI = t_{bg} +$

1 $0.36 t_{dp} + 41.5$; with Tbg = black globe temperature ($^{\circ}\text{C}$) and Tdp: dew point temperature
2 ($^{\circ}\text{C}$). Average BGHI indoors was 65.3 (± 5.4 , range from 52.3 to 79.7), and outdoors BGHI
3 average was 65.3 (± 9.7 , range from 48.4 to 90.4).

4 *Milk production* – Throughout the experimental period, milk production data were
5 collected automatically for individual cows during the morning and afternoon milking, by
6 using a computerized recording system (Westfalia Surge). These 2 daily milk yields were
7 summed to provide a total daily milk yield in kg per cow.

8 Before and after the experimental tests, BCS was recorded for each cow on a scale
9 of 1 to 5 according to the method described by Edmonson et al. (1989). BCS evaluations
10 were performed by the same person after cows were returned from milking. The average BCS
11 of each cow was calculated as the mean of the 2 scores recorded over the study period.

12

13 *Statistical Analyses*

14 Differences in maximum weight pushed were compared within cow using a paired t-
15 test in SAS (PROC TTEST; SAS version 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC). The test
16 assessed whether weight pushed for access to pasture or TMR was different from 0, for 22
17 cows tested, individually. To test effects of climatic conditions on pasture use we calculated
18 the percentage of time cows were on pasture during choice days. A preliminary screening of
19 the climatic variables was performed using stepwise multiple regression in SAS (PROC
20 STEPWISE; SAS Institute Inc.) retaining variables with $P < 0.05$. The statistical significance
21 of these factors was tested using PROC MIXED of SAS (SAS Institute Inc.), including cow
22 as a random effect in the model and testing the effect of BGHI on time spent on pasture.
23 Purely descriptive measures (not intended for inferential comparisons) are cited \pm standard
24 deviation.

25

RESULTS

Experiment 1

The training lasted on average 12 ± 2.0 days for the cows. During the TMR test the number of cows completing the task decreased as the weight on the gate increased daily (in 7 kg increments) (Figure 2). Cows pushed on average (\pm SD) 36.5 ± 14.4 kg on the gate to access the TMR. Cows received on average 35.7 kg of TMR / cow / day on dry matter basis. We assumed that cows would be highly motivated to work for access to fresh TMR after milking events and thus push as much weight as possible; the test ended when cows failed to push the weight within a 4-hour period. Following this period the gate was manually opened and the cows allowed accessing the TMR.

Experiment 2

In the second experiment cows pushed on average 31.6 ± 17.5 kg on the gate to access pasture. The number of cows willing to work for pasture access decreased as the weight on the gate increased (7 kg daily) (Figure 2). There was no difference between the amount of weight pushed on the gate by cows to access both pasture and TMR ($t_{22} = -1.34$; $P = 0.1958$) (Figure 3).

The total duration of a day-test was adjusted starting at the moment the access to the push gate was allowed and finishing when the cows were chased back before morning milking. Behaviors duration are reported in percentage per day.

Total time over a day spent outdoors, indoors, lying, standing and consuming the TMR during the experiment are summarized in Table 2 for cows that completed the task.

When provided the choice, cows spent on average 33.7 % of their time per day outdoors, ranging from 2.5 to 67.5 %. Use of pasture varied with time of day, with the preferred time of day to access the pasture being after evening milking. The latency to

1 complete the task was 1.1 ± 1.62 h (range from 0.01 to 6.92 h) and it did not vary within
2 different weights on the gate. During day time visual observations when cows were outside
3 they spent on average 19.82 ± 14.76 % of the time lying, 12.18 ± 9.34 % standing, $40.66 \pm$
4 19.42 % grazing and 3.35 ± 5.78 % standing on the track between pasture and the free-stall
5 (Table 1).

6 When indoors cows spent the majority of their time lying down or feeding. Cows
7 spent on average 31.1 ± 3.9 % of their time per day lying indoors and 19.9 ± 4.0 % lying
8 outdoors. Total lying time was 1.9 h /d greater indoors relative to outdoors. Cows spent on
9 average 15.2 ± 4.6 % of their time per day at the feed bunk, including periods when they
10 were forced to stay inside the barn to consume the TMR after milking.

11 The use of pasture varied with air temperature ($r = -0.53$; $P = 0.002$) and relative
12 humidity ($r = 0.46$; $P = 0.008$) during the day. The black globe and humidity index (BGHI)
13 averaged 57.99 ± 3.95 from 1900 to 600 h and 71.44 ± 7.06 in the period between morning
14 and afternoon milking which also coincided with most of the animals remaining indoors ($r = -$
15 0.7839 ; $P = <0.001$). Rainfall did not influence the percentage of cows on pasture ($P = 0.45$).

16 Throughout the experiment sward height measured on average 39.4 ± 8.65 cm
17 (range from 22.0 to 64.0 cm). There was no difference throughout the periods of test
18 ($P < 0.001$; $R^2 = 0.38$). Average herbage availability along the experiment was 7.6 ± 2.37 kg /
19 cow / day on dry matter basis. Milk production averaged 31.1 ± 3.24 in the beginning of the
20 experiment and 28.3 ± 10.26 in the end of it.

21

22

DISCUSSION

23

24

Majority of cows successfully learned the task of pushing a weighted gate to have
access to a specific reward. Dairy heifers also learned to operate an electronic panel in order

1 to activate a device which would release them to rest and dairy calves learned to press a
2 electronic panel to gain access to a social companion (Jensen et al., 2004, Holm et al., 2002).

3 In Experiment 1 cows pushed a maximum of 63.0 kg on the gate to access fresh
4 TMR after milking. As reported by Fraser and Matthews (1997) commodities that are very
5 important to the animal should show a relatively inelastic demand, a concept used frequently
6 by economists and then adapted by Dawkins (1990) for use in the study of animal welfare. In
7 other words if the reward is important to the animals they should work harder and harder to
8 maintain a given level of the reward. Thus, the highest effort that the animals complete is a
9 direct measure that estimates the value that the animal attaches to access to the resource
10 (Kirkden and Pajor, 2006).

11 It was expected that cows would be willing to push greater weight to access fresh
12 TMR compared to pasture considering it is well established that the management practice of
13 feed delivery (DeVries and von Keyserlingk, 2005) and the act of returning from milking
14 stimulate feeding activity in cows (DeVries et al., 2003).

15 Although Shütz et al. (2006) reported that feed motivation increases within a few
16 hours of feed deprivation, we failed to observe this in the present study. The fact that all cows
17 that failed to complete the task with the four-hour feed deprivation period immediately went
18 straight to TMR after the gate was manually open indicates that the cows may have learned to
19 wait, rather than work for access to the feed. Similarly to these findings Melin et al. (2005)
20 subjected cows to 2 different traffic routines in an automatic milking system with control
21 gates and an open waiting area and reported that cows seem to have learned when the gates
22 were about to close and apparently reduced the interval between the first and the second meal
23 in the milking cycle.

1 Moreover, cows' BW was not related to the amount of weight pushed on the gate by
2 each cow ($r = 0.174$), indicating that they were able to maintain adequate nutrient intake to
3 prevent weight loss.

4 In Experiment 2 cows pushed a maximum of 56.0 kg to access pasture. It was
5 expected that cows would work harder for TMR access in relation to pasture, but there was
6 no difference between the amount of weight pushed on the gate by cows to access both
7 resources. Each cow was compared with itself. Although, Charlton et al. (2013) reported that
8 cows are willing to walk different distances to access pasture the authors failed to provide a
9 gold standard, reported by Kirkden and Pajor (2006) as essential for determining animals'
10 motivation and thus it is difficult to assess the motivation for access to pasture.

11 When offered the choice between work for access to pasture or stay indoors, cows
12 spent around 69 % of their time inside the free-stall housing. This is considerable more than
13 that reported by Legrand et al. (2009) who affirmed that lactating dairy cows spent on average
14 46 % of their time indoors in a free choice test. The higher values presented in this study
15 might have been due to higher average daily temperatures and the fact that cows had to work
16 to get access to pasture, which might be a better test to infer the preference.

17 While on pasture, cows spent 40.6% of their time grazing. It was similar to the 35%
18 reported by Charlton et al. (2013). Findings from Charlton et al. (2011a) revealed that
19 although cows only spent 8.1% of their time on pasture when given a choice, approximately
20 50% of this time was spent grazing, which may suggest according to the authors that they
21 were choosing to access pasture to graze.

22 Similar to that reported by Legrand et al. (2009) and Charlton et al. (2011ab) in the
23 present study cows showed a partial preference for the indoor environment during the day
24 when the BGHI outdoors was high (around 74) and thus they were motivated to access the
25 pasture in the early hours of the evening after milking when the BGHI was lower (around

1 60). BGHI is a comfort index for dairy cows based on the combined effects of bulb
2 temperature, humidity, net radiation and air movement; values lower than 70 have been
3 reported to have a small effect on the performance of dairy cows, while values over 75 have
4 been equated with increases in heat stress conditions and decreases in DMI (Buffington et al.,
5 1981).

6 The failure to see any differences in the latency to complete the task within different
7 weights on the gate was not surprising given that most of the cows elected to remain outdoors
8 once they had completed the task. Whether this was a result of cows not wanting to engage
9 in the task of having to again push the weighted gate to return to the free stall housing or
10 because they were highly motivated to remain outdoors is not known but worthy of future
11 research. The fact that herbage was never limiting thus they could also forage outside rather
12 than going inside to eat TMR might have contributed for cows staying outdoors.

13

14

CONCLUSION

15 The results of the current study indicate that dairy cows are as motivated to access
16 pasture as they are to eat fresh TMR after milking; rather their preferences are conditioned to
17 time of day and environmental factors. We concluded that preference tests and push-gates are
18 appropriate means to test dairy cows' motivation. The results must be interpreted in relation
19 to the specific options provided. For example, cows may have spent more time outdoors if
20 shade were available. We also recommend that future studies should assess through
21 electronic devices the strength of force which cows push the gate.

22

23

ACKNOWLEDGMENTS

24 We thank the faculty, staff and students at the University of British Columbia's Dairy
25 Education and Research Centre and the University's Animal Welfare Program. M.A.G. von

1 Keyserlingk and D.M. Weary are supported by Canada's Natural Sciences and Engineering
2 Research Council (NSERC) Discovery program and the NSERC Industrial Research Chair
3 Program with industry contributions from the Dairy Farmers of Canada (Ottawa, ON,
4 Canada), Westgen Endowment Fund (Milner, BC, Canada), Pfizer Animal Health (Kirkland,
5 QC, Canada), BC Cattle Industry Development Fund (Kamloops, BC, Canada), the BC Milk
6 Producers (Burnaby, BC, Canada), BC Dairy Foundation (Burnaby, BC, Canada), BC Dairy
7 Education and Research Association (Abbotsford, BC, Canada), and Alberta Milk
8 (Edmonton, AB, Canada).

9

10

REFERENCES

11 Barrientos, A. K., N. Chapinal, D. M. Weary, E. Galo, and M. A. G. von Keyserlingk. 2013.
12 Herd-level risk factors for hock injuries in freestall-housed dairy cows in the
13 northeastern United States and California. *J. Dairy Sci.* 96:3758–3765.

14

15 Buffington, D. E., A. Collazo-Arocho, G. H. Canton, D. Pitt, and R. J. Thatcher. 1981. Black
16 globe-humidity index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. *Transactions of
17 the ASABE* 24:711-714.

18

19 Chapinal, N., C. Goldhawk, A.M. de Passilé, M.A.G. von Keyserlingk, D.M. Weary, and J.
20 Rushen. 2010. Overnight access to pasture does not reduce milk production or feed
21 intake in dairy cattle. *Livestock Sci.* 129:104-110.

22

23 Chapinal, N., A. K. Barrientos, M. A. G. von Keyserlingk, and E. Galo. D. M. Weary. 2013.
24 Herd-level risk factors for lameness in freestall farms in the northeastern United
25 States and California. *J. Dairy Sci.* 96:318–328.

26

27 Charlton, G. L., S. M. Rutter, E. Martyn, and L. A. Sinclair. 2011a. Preference of dairy cows:
28 Indoor cubicle housing with access to a total mixed ration vs. access to pasture.
29 *Appl. Anim. Behav. Sci.* 130:1-9.

30

31 Charlton, G. L., S. M. Rutter, M. East, and L. A. Sinclair. 2011b. Effects of providing total
32 mixed rations indoors and on pasture on the behavior of lactating dairy cattle and
33 their preference to be indoors or on pasture. *J. Dairy. Sci.* 94:3875-3884.

34

35 Charlton, G. L., S. M. Rutter, M. East, and L. A. Sinclair. 2013. The motivation of dairy cows
36 for access to pasture. *J. Dairy Sci.* 96:4387–4396.

37

38 Clark, D. A., and V. R. Kanneganti. 1998. Grazing management systems for dairy cattle.
39 Pages 311-334 in *Grass for Dairy Cattle*. Cherney, J.H., D.J.R. Cherney, ed. CABI
40 Publishing, Wallingford, UK.

- 1 Dawkins, M. S. 1990. From an animal's point of view: Motivation, fitness, and animal
2 welfare. *Behavioral and Brain Sciences*, 13, 1-61.
- 3
- 4 DeVries, T. J., M. A. G. von Keyserlingk, and K. A. Beauchemin. 2003. *Short*
5 *Communication: Diurnal Feeding Pattern of Lactating Dairy Cows*. *J. Dairy Sci.*
6 86:4079–4082.
- 7
- 8 DeVries, T. J., and M. A. G. von Keyserlingk. 2005. Time of feed delivery affects the feeding
9 and lying patterns of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88:625-631.
- 10
- 11 Edmonson, A. J., I. J. Lean, L. D. Weaver, T. Farver, and G. Webster. 1989. A body
12 condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72:68–78.
- 13
- 14 Flower, F.C., and D. M. Weary. 2006. Effect of hoof pathologies on subjective assessments
15 of dairy cow gait. *J. Dairy Sci.* 89:139-146.
- 16
- 17 Fraser, D., and L. R. Matthews. 1997. Preference and motivation testing. Pages 159-173 in
18 M.C. Appleby and B.O. Hughes (editors), *Animal Welfare*. CAB International,
19 Wallingford, UK.
- 20
- 21 Hernandez-Mendo, O., M. A. G. von Keyserlingk, D. M. Veira, and D. M. Weary. 2007.
22 Effects of pasture on lameness in dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 90:1209-1214.
- 23
- 24 Holm, L., M. B. Jensen, L. L. Jeppesen. 2002. Calves' motivation for acces to two different
25 types of social contact measured by operant conditioning. *Appl. Anim. Behav. Sci.*
26 79:175-194.
- 27
- 28 Jensen, M. B., L. Munksgaard, L. J. Pedersen, J. Ladewig, L. Matthews. 2004. Prior
29 deprivation and reward duration affect the demand function for rest in dairy heifers.
30 *Appl. Anim. Behav. Sci.* 88:1-11.
- 31
- 32 Kirkden, R. D., and E. A. Pajor. 2006. Using preference, motivation and aversion tests to ask
33 scientific questions about animals' feelings. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 100:29-47.
- 34
- 35 Krohn, C. C. 1992. Behaviour of dairy cows kept in extensive (loose housing/pasture) or
36 intensive (tie stall) environments—III. Grooming, exploration, and abnormal
37 behaviour. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 42:73–86.
- 38
- 39 Kruschwitz, A., M. Zupan, T. Buchwalder, and B. Huber-Heicher. 2008. Nest preference of
40 laying hens (*Gallus gallus domesticus*) and their motivation to exert themselves to
41 gain nest access. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 112:321-330.
- 42
- 43 Legrand, A. L., M. A. G. von Keyserlingk, and D. M. Weary. 2009. Preference and usage of
44 pasture versus free-stall housing by lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 92:3651–
45 3658.
- 46
- 47 Martin, P., and P. Bateson. 1993. *Measuring behavior: and introductory guide*. Cambridge
48 University Press, Cambirdge.
- 49

- 1 Melin, M., K. Svennersten-Sjaunja, and H. Wiktorsson. Feeding Patterns and Performance of
2 Cows in Controlled Cow Traffic in Automatic Milking Systems. 2005. *J. Dairy Sci.*
3 88:3913–3922.
4
- 5 Petherick, J. C., and S. M. Rutter. 1990. Quantifying the motivation using a computer
6 controlled push-door. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 27:159-167.
7
- 8 Schütz, K., D. Davison, and L. R. Matthews. 2006. Do different levels of moderate feed
9 deprivation in dairy cows affect feeding motivation? *Appl. Anim. Behav. Sci.*
10 101:253-263.
11
- 12 Špinka, M. 2006. How important is natural behaviour in animal farming systems? *Appl.*
13 *Anim. Behav. Sci.* 100:117–128.
14
- 15 Toledo, J. M., and R. Schultze-Kraft. 1982. Metodología para la evaluación agronomica de
16 pastos tropicales. Pages 91-110 in CENTRO INTERNACIONAL DE
17 AGRICULTURA TROPICAL (CIAT). Manual para la Evaluación Agronómica,
18 Red Internacional de Evaluación de Pastos Tropicales. Cali: J.M. Toledo.
19
- 20 Verbeek, E., J. R. Waas, L. McLeay, and L. R. Matthews. Measurement of feeding
21 motivation in sheep and effects of food restriction. *Appl. Anim. Behav. Sci.*
22 132:121-130.
23
- 24 Washburn, S. P., W. J. Silvia, C. H. Brown, B. T. McDaniel, and A. J. McAllister. 2002.
25 Trends in reproductive performance in southeastern Holstein and Jersey DHI herds.
26 *J. Dairy Sci.* 85:244-251.
27
- 28 Wichman, A., and Keeling, L. J. Hens are motivated to dustbathe in peat irrespective of being
29 reared with or without a suitable dustbathing substrate. 2008. *Anim. Behav.*
30 75:1525-1533.
31
- 32
- 33
- 34
- 35
- 36
- 37
- 38
- 39
- 40

1 Figure captions

2

3 **Figure 1.** Push-gate used to test cows motivation to access TMR and pasture.

4

5 **Figure 2.** Number of cows ($n = 22$) pushing the gate to access fresh TMR after milking and
6 pasture according to the weight (kg) placed on it.

7

8 **Figure 3.** Difference of weight (kg) pushed on the gate by each cow ($n = 22$) during the tests
9 to access fresh TMR after milking and to access pasture.

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

1 Table captions

2

3 **Table 1.** Behaviors observed outdoors when cows successfully pushed the gate with different

4 weights.

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

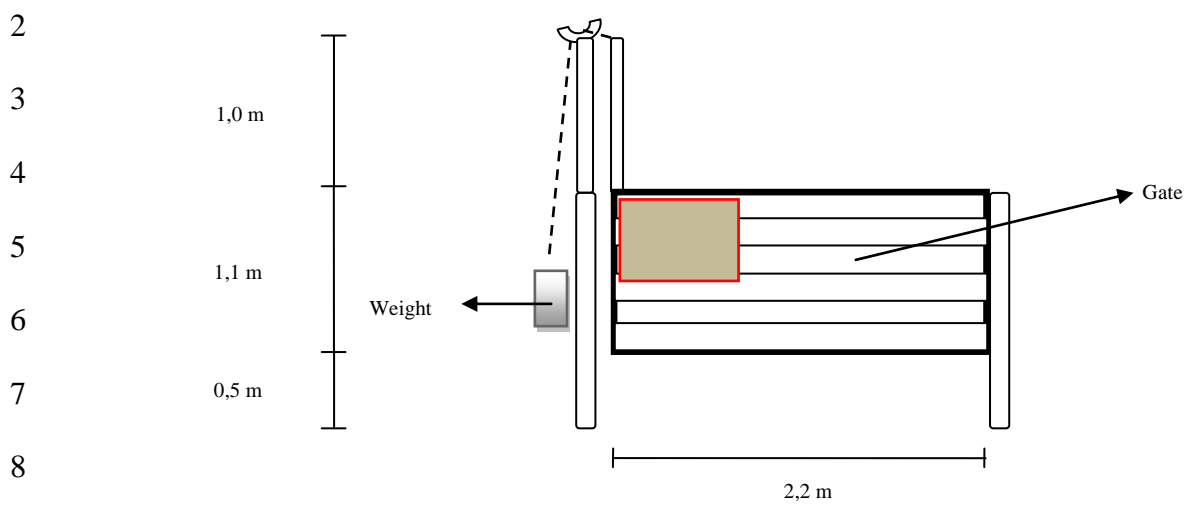
22

23

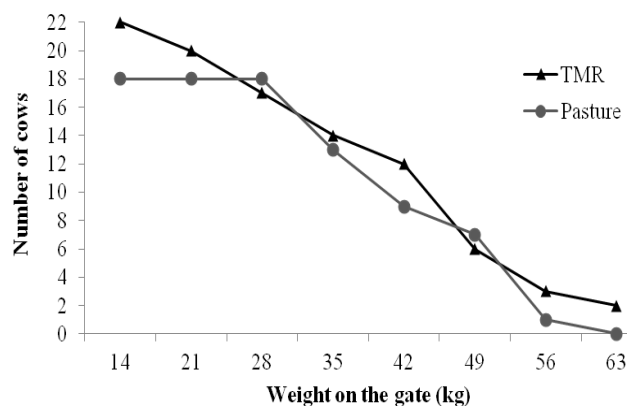
24

25

1 Cestari et al. Figure 1.



1 Cestari et al. Figure 2.



2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

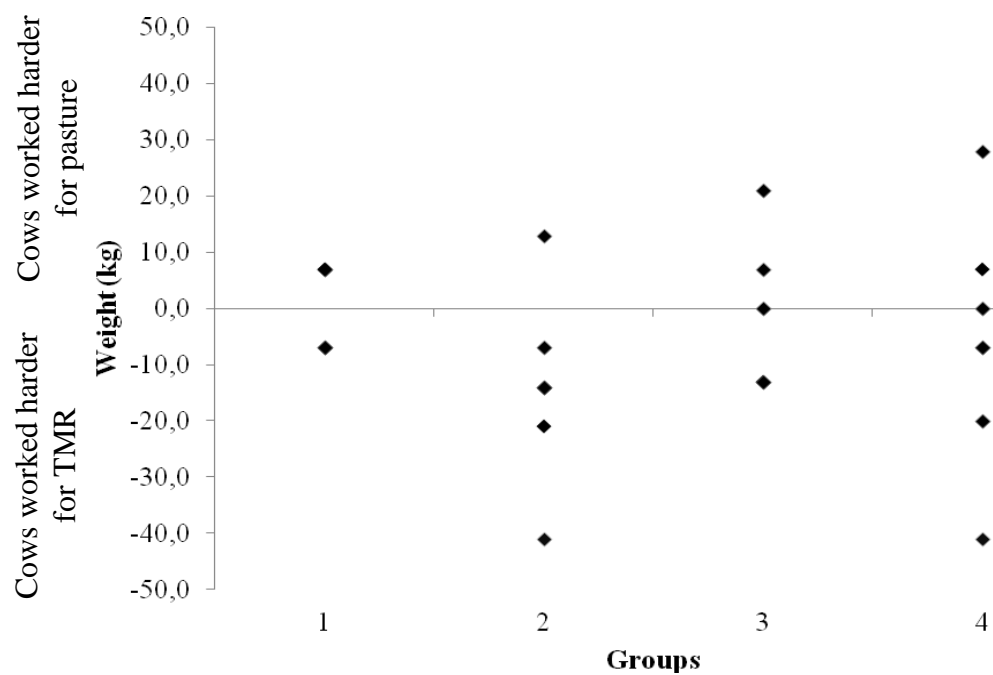
14

15

16

17

1 Cestari et al. Figure 3.



2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

Cestari et al. Table 1.

Item	Weight on the gate (kg) and number of cows outdoors						
	14 (16)	21 (16)	28 (16)	35 (9)	42 (7)	49 (6)	56 (1)
Time spent over a day (%)							
Total time spent outdoors	40.9 ± 12.22	47.8 ± 17.12	36.2 ± 20.01	45.1 ± 2.78	37.5 ± 25.59	38.8 ± 13.75	20.8 ± 0.0
Lying	18.3 ± 10.25	23.1 ± 10.73	18.4 ± 14.99	22.2 ± 13.49	20.5 ± 13.84	29.2 ± 8.99	7.9 ± 0.0
Standing	21.1 ± 4.67	24.4 ± 11.37	17.8 ± 5.69	22.8 ± 12.05	17.0 ± 11.84	9.5 ± 4.75	12.8 ± 0.0
Total time spent indoors	56.4 ± 12.10	47.4 ± 18.02	61.4 ± 21.83	49.6 ± 2.78	59.0 ± 25.33	56.2 ± 13.10	75.1 ± 0.0
Lying	31.7 ± 13.08	26.8 ± 18.03	31.6 ± 18.5	24.3 ± 5.76	32.6 ± 25.22	23.8 ± 10.14	47.0 ± 0.0
Consuming the TMR	13.7 ± 2.69	12.3 ± 1.45	14.9 ± 2.33	16.2 ± 3.64	14.5 ± 4.27	17.8 ± 4.85	10.9 ± 0.0
Standing elsewhere	15.1 ± 1.96	13.5 ± 4.92	17.3 ± 3.68	14.4 ± 3.49	15.4 ± 5.01	19.7 ± 1.24	21.4 ± 0.0

1 **5 ARTIGO 2²**

2

3 **Interpretive Summary: Motivation for access to pasture in dairy cows. Cestari et al. 000-**
4 **000.** In social species like cattle, motivation to access resources may depend upon the
5 location and behavior of social partners. This study tested how the motivation of free-stall
6 housed dairy cows to access to pasture varied with the presence of familiar and unfamiliar
7 social partners. Motivation strength was tested using a weighted push gate. Cows were very
8 consistent in pushing the apparatus to go outdoors when social partners were there. The
9 results indicate that motivation to access pasture is stronger when paired with access to
10 familiar social companions.

11

12

13 **SOCIAL CONSTRAINTS AFFECT ACCESS TO PASURE**

14

15 **Social constrains affect the motivation to work for access to pasture in dairy cows**16 A.A. Cestari^{1,2}, J.A. Fregonesi², D.M. Weary¹ and M.A.G von Keyserlingk^{*,1}17 ¹Animal Welfare Program, Faculty of Land and Food Systems, University of British18 Columbia, 2357 Main Mall, Vancouver, V6T1Z4, Canada; ²C.A.R.E. – Cuidado Animal e

19 Responsabilidade Ética, Universidade Estadual de Londrina, Rod. Celso Garcia Cid PR 445

20 Km 380, Campus Universitário, Londrina, 86051-980, Brasil

21

22 Corresponding author's Email: nina@mail.ubc.ca

23

24 **ABSTRACT**

25 In social species like cattle, motivation to access resources may depend upon the location and

26 behavior of social partners. This study tested how the motivation of free-stall housed dairy

27 cows to access to pasture varied with the presence of familiar and unfamiliar social partners.

² O artigo foi redigido de acordo com as normas do *Journal of Dairy Science* e será submetido para publicação nesta revista. Anexo 1.

1 We used a total of twenty-four lactating dairy cows. Twelve Holstein cows were first trained
2 to push a weighted gate to access an adjacent experimental pen with fresh TMR; the other 12
3 cows formed the unfamiliar group. The weight started at 14 kg and was increased by 7 kg/d
4 until cows were no longer willing to perform the task. Cows were then individually allowed
5 to push the gate to access pasture for 3 d under each of 3 conditions: 1) familiar social group
6 on pasture, with weight set at the maximum pushed for TMR + 7 kg; 2) unfamiliar group on
7 pasture with weight set as in treatment (1); and, 3) familiar social group on pasture, with
8 weight set at the maximum pushed for TMR + 14 kg. Cows pushed higher weight for access
9 to pasture compared to the TMR test, especially when social partners were outside. The
10 number of cows accessing pasture was higher in treatment 1 versus 2; the number of cows
11 responding in treatment 3 did not differ from treatments 1 or 2. The results indicate that
12 motivation to access pasture is stronger when paired with access to familiar social
13 companions.

14 *Keywords:* preference test, social behavior, operant test, welfare

15

16

INTRODUCTION

17 Motivation testing involves understanding the nature and strength of the causes of the
18 behavior and provides one way of examining the importance of different behaviors for animal
19 welfare (Rushen et al., 2008). Dawkins (1983) was the first to report how the classic
20 economic theory of supply and demand could be used to describe and assess motivational
21 strength. In essence quantifying the value that animals place on particular behavioral patterns
22 and access to resources (Mathews and Ladewig, 1994). This experimental paradigm is
23 premised on the assumption that it is reasonable to conclude that animal welfare is improved
24 if animals are willing to work hard for access to a particular resource or to engage in a
25 particular behavior (Broom, 1988).

1 The need for a resource may be influenced by the context in which it is assessed
2 (Pedersen et al., 2002) and the priority of different behaviors may be affected by the social
3 context in which the animals are tested (Sherwin and Nicol, 1998; Mench and Stricklin,
4 1990). The majority of studies to date have tested animals in social isolation in order to avoid
5 confounding between social factors; however, social contact may itself be a behavioral need
6 as shown in pigs (Matthews and Ladewig, 1994; Pedersen et al., 2002).

7 Sociability is a term used to describe the motivation of individuals to remain close to
8 conspecifics (Sibbald et al., 2006). On pasture, for example, the motivation to stay close to
9 other animals may conflict with motivation to move towards patches of high quality
10 vegetation, which has the potential to affect individual feeding success, resulting in a conflict
11 that will require trade-offs or a choice from the individuals (Estevez et al., 2007; Grant and
12 Albright, 2001; Munksgaard et al., 2005). In this case, the fear of social isolation might
13 influence the willingness of individuals to move away of the group thus affecting their
14 foraging strategy (Sibbald, 2004). The formation of subgroups by sheep grazing on
15 grasslands for example is partly determined by social factors, particularly the quality of
16 relationships that exist between individuals (Boissy and Dumont, 2002).

17 Social behavior of cattle is characterized by a tendency to form and maintain cohesive
18 social groups (Gibbons et al., 2010). Cattle are social animals (De Vries et al., 2011), feeding
19 and resting are highly synchronized (Benham, 1982). Moreover, numerous reports have
20 shown that behaviors performed in different situations are influenced by the social context.
21 For example, Veissier and Le Neindre (1992) reported that testing heifers in groups in a small
22 novel arena induced more exploratory behavior compared to when the animal was tested
23 individually. On an individual level, calves expressed a high motivation to be close to social
24 companions, assessed based on their demand during 3-min periods for head contact or full
25 social contact (Holm et al., 2002). Hopster and Blokhuis (1994) showed negative behavioral

1 responses in dairy cows when one cow was kept alone while its herd mates left the cubicle
2 housing.

3 Cows have shown a preference for access to pasture, particularly during the night
4 time hours (Legrand et al., 2009; Charlton et al., 2011; Krohn et al., 1992). Additionally
5 housing cows on pasture has also shown to provide health benefits such as lower incidence of
6 mastitis and lameness (Washburn et al. 2002; Hernandez-Mendo et al., 2007). However, no
7 work to date has investigated the effect of known and unknown conspecifics on a cows'
8 decision of whether to access pasture.

9 The objective of this study was to use a weighted push-gate to measure how the
10 strength of motivation of lactating dairy cows kept in a free-stall housing for pasture access
11 varied with the presence of familiar and unfamiliar social partners. A secondary aim was to
12 report cows' motivation to access fresh feed (Total Mixed Ration – TMR) after milking,
13 which was used as the gold standard. We hypothesized that cows would work harder for
14 pasture access when it was paired with familiar social companions, but that motivation would
15 be affected, in part, by environmental factors.

16

17

MATERIALS AND METHODS

18 Two experiments were conducted at The University of British Columbia's Dairy
19 Education and Research Centre in Agassiz, British Columbia, Canada, from April to
20 September of 2012. All cows were initially tested to determine their motivation for fresh
21 TMR after milking. Once completed, cows were then tested for access to pasture paired with
22 the presence of familiar and unfamiliar social partners. Animals were cared for according to
23 the guidelines set out by the Canadian Council of Animal Care (2009).

24

25

1 ***Experiment 1***

2 *Animals, housing and management* – Lactating, pregnant, Holstein cows were tested
3 (n = 12 observational units). Cows averaged (mean \pm SD) 261.9 \pm 13.3 DIM, 30.5 \pm 4.5 L of
4 milk/day, 1.4 \pm 0.7 parity, 685.8 \pm 86.2 BW (kg) and 3.0 \pm 0.3 BCS (scored from 1 to 5
5 following Edmonson et al., 1989) at the beginning of the study.

6 Two experimental pens were used in this study, one containing 12 stalls (pen A) and
7 another with 24 stalls (pen B), filled with 40 cm of washed river sand raked level twice daily.
8 Pen A had a total of 6 m of accessible feed-alley space and pen B 12 m. Both pens were
9 configured in 3 rows separated by a 3.0-m alley: 2 rows faced one another (length of 250 cm)
10 and the back row faced a cement wall (length of 270 cm). All stalls were 120 cm wide (center
11 to center of divider partitions). The crossover alleys were scraped manually twice daily and
12 the other alleys cleaned with automatic scrapers. Cows were milked twice daily in a double
13 12-parallel milking parlor at approximately 0630 and 1600 h. Cows spent on average 30
14 min/milking in the holding area and milking parlor, and hence away from the home pen.

15 *Apparatus* – A weighted push-gate was used to test the strength of motivation of
16 lactating dairy cows (Picture 1). The force required of the cow to open the gate was
17 controlled by changing the amount of weight on the gate.

18 *Training period* – A group of 12 cows was trained to open the push-gate placed
19 between pens A (without feed) and B (with TMR). Fresh TMR was supplied twice daily
20 while cows were being milked. After milking cows were chased back into pen A, deprived
21 from food during 1 hour and then individually trained in one single trial to access fresh TMR
22 at pen B (two trials per day). A red wooden square was placed on the gate before starting a
23 training session to indicate the cows the right place to push.

1 Cows received a TMR consisting of 21.8% corn silage, 18.6% grass silage, 10.3%
2 alfalfa hay and 49.3% concentrate mash, on a DM basis to *ad libitum* intake. The TMR was
3 composed of 48.2 DM on average, with 18.5% CP, 31.6% NDF and 18.9% ADF.

4 During the training period cows' behaviors were assessed by using video recordings,
5 which enabled the trainer to analyze if the task requested, i.e., pushing the gate was well
6 learned and which animals were able to run it. Cows were considered fully trained when
7 pushing the gate (7 kg) without any help during four training sessions sequentially.

8 *Testing Period* – During the test phase, cows were chased back into pen A after
9 milking and had to open the push-gate to access fresh feed provided at pen B. Tests were
10 carried out starting approximately one hour after cows were back into their home pen (A).
11 Cows were given 2.5 h to complete the task, when the gate was then manually opened and the
12 animals allowed accessing the food. The weight started at 7 kg and was increased by 7 kg /
13 day until cows were no longer willing to perform the task within the time given to it.
14 Maximum weight pushed was recorded by cow.

15

16 ***Experiment 2***

17 *Animals, housing and management* – Twenty four pregnant, Holstein Dairy cows
18 were used in this study, 12 trained cows from Experiment 1 and a new group of 12
19 (untrained) cows. In the beginning of the experiment trained cows were grouped for 60 days
20 and formed the familiar group. Cows which formed the unfamiliar group averaged (mean \pm
21 SD) 305.4 \pm 48.7 DIM, 29.3 \pm 5.0 L of milk/day, 3.2 \pm 2.1 parity, 760.0 \pm 68.1 kg (BW), 3.2
22 \pm 0.3 BCS.

23 Two experimental pens (pens A and B from experiment 1) and a striped grazed
24 pasture field were used in this study. Eight cows (n = 8 observational units) of the trained

1 group were tested individually and the group of untrained cows was considered an unfamiliar
2 group in relation to the first one.

3 Cows were tested during a 3-d free-choice phase under each of 3 conditions: 1)
4 familiar social group on pasture, with weight set at the maximum pushed for TMR + 7 kg; 2)
5 unfamiliar group on pasture with weight set as in treatment (1); and, 3) familiar social group
6 on pasture, with weight set at the maximum pushed for TMR + 14 kg. Table 1 summarizes
7 the amount of weight placed on the gate for each cow. Both familiar and unfamiliar groups
8 (separated) were kept in the free-stall housing for 1.5 h after each milking and provided
9 access to TMR. After this period one of the groups was chased to pasture and the cow to be
10 tested placed alone at pen B. After a minimum 30-min period the cow could access the push-
11 gate and choose stay inside or go outside. In this experiment, once outside, the cow was not
12 able to go back into the free-stall housing. Remaining inside would mean for the cow staying
13 in a pen besides a group (familiar or unfamiliar) and on pasture the cow would be able to stay
14 in a paddock besides a group (familiar or unfamiliar). In both cases the animal was not able to
15 join the groups, i.e., cow being tested was managed in a separate pen and paddock.

16 Pasture was consisted of an orchard grass (*Dactylis glomerata*) / Tall fescue
17 (*Festuca arundinacea*) blend. The field was divided into 3 plots (30 m wide by 80 m long)
18 and paddocks (30 m wide x 15 m long) were strip grazed using portable electric fences
19 moved daily (during the morning milking) according to the consumption observed, to ensure
20 that group and the test-cow had access to adequate forage availability. The distance between
21 the grazing area and the free-stall housing entrance was 12 m. Water was provided at pasture
22 via a self-filling water trough located at the edge of each plot and between pens inside the
23 free-stall housing.

24 Cows were milked twice daily in a double 12-parallel milking parlor at
25 approximately 0630 h and 1700 h. Unfamiliar and familiar cows were chased to the milking

1 parlor separately. Cows spent on average 30 min/milking in the holding area and milking
2 parlor, and hence away from the home pen.

3 *Behavioral measures* – Two cameras (WV-BP330, Panasonic, Osaka, Japan)
4 installed inside the free-stall and exit to the pasture were used to monitor the behavior and
5 record the location of cows. At the gate, percentage of correct responses and number attempts
6 to gain access to pasture were recorded considering different weights on the gate.

7 *Climatic measures* – Two Heat Stress Meter and Data Logger (Reed SD-2010) were
8 used to record wet bulb globe temperature, air temperature, black globe temperature and
9 humidity inside and outside the barn 24 h / d. Black Globe Humidity Index (BGHI) was
10 calculated following Buffington et al. (1981): $BGHI = t_{bg} + 0.36 t_{dp} + 41.5$; with T_{bg} = black
11 globe temperature ($^{\circ}\text{C}$) and T_{dp} : dew point temperature ($^{\circ}\text{C}$).

12

13 *Statistical Analyses*

14 The number of cows pushing the gate to access to pasture was compared using
15 Fisher's Exact test. To test effects of climatic conditions on pasture use we calculated the
16 percentage of time cows were on pasture during choice days. A preliminary screening of the
17 climatic variables was performed using stepwise multiple regression in SAS (PROC
18 STEPWISE; SAS Institute Inc.) retaining variables with $P < 0.05$. The statistical significance
19 of these factors was tested using PROC MIXED of SAS (SAS Institute Inc.), including cow
20 as a random effect in the model and testing the effect of BGHI and air temperature on time
21 spent on pasture. Purely descriptive measures (not intended for inferential comparisons) are
22 cited \pm standard deviation.

23

24

RESULTS

Experiment 1

The training lasted on average 10 ± 2.0 days for the cows. During the TMR test the number of cows completing the task decreased as the weight on the gate increased daily (in 7 kg increments). Cows pushed on average (\pm SD) 36.6 ± 9.1 kg on the gate to access TMR. Cows received on average 35.7 kg of TMR / cow / day on dry matter basis. We assumed that cows would be highly motivated to work for access fresh TMR after milking events and thus push as much weight as possible; the test ended when cows failed to push the weight within a 4-hour period. Following this period the gate was manually opened and the cows allowed to access TMR.

Experiment 2

Cows pushed 44.1 ± 9.1 kg in treatment 1 and 50.4 ± 8.8 kg in treatment 3. The number of cows accessing pasture was higher in treatment 1 versus 2 (6.5 ± 0.7 versus 1.0 ± 0.0 ; $P = 0.01$); the number of cows responding in treatment 3 (4.5 ± 2.1) did not differ from treatments 1 or 2 (N.S.). When motivation was analysed for morning and afternoon, similar results were found (Figure 2).

Number of attempts to push the gate was higher when paired with familiar partners outdoors. Cows attempted to open the gate to access pasture 35 times in treatment 1, 9 times in treatment 2 and 37 times in treatment 3. All cows completed the task in treatment 1 (in the morning or afternoon) and two cows were unable to push the gate in treatment 3, despite tried to do it. Two cows pushed the gate to go outside in treatment 2 (Figure 3).

Cows that pushed the gate spent 80.3 ± 39.86 of their time outdoors in treatment 1 and 97.5 ± 4.59 % in treatment 2. The great time spent outdoors shows that latency to open the gate was short once the access to the gate was allowed (7.3 ± 10.8 min.).

1 Pasture usage didn't vary with air temperature or black globe temperature ($P >$
2 0.05). Maximum air temperature averaged $30.5 \pm 8.08^{\circ}$ C outdoors (range from 13.9 to 43.4°
3 C) and $24.9 \pm 4.44^{\circ}$ C indoors (range from 14.4 to 30.1° C) throughout the experiment.
4 Maximum black globe temperature averaged $32.6 \pm 8.16^{\circ}$ C outdoors (range from 14.1 to
5 42.9° C) and $25.4 \pm 4.67^{\circ}$ C indoors (range from 14.2 to 30.9° C) throughout the experiment.
6 Black globe and humidity index averaged 76.5 ± 8.03 in treatment 1; 79.3 ± 7.69 in treatment
7 2; and 78.8 ± 9.55 in treatment 3. Rainfall averaged 0.19 ± 0.96 mm (range from 0 to 13.2
8 mm).

9 Throughout the experiment sward height averaged 30.4 ± 5.92 cm (range from 22.0
10 to 42.0 cm) and pasture dry matter averaged 40.9 ± 4.20 %.

11

12

DISCUSSION

13 Cows successfully learned the task of opening a push-gate to access the resources
14 offered. Authors have reported that bovines can learn different tasks. Dairy heifers learned to
15 operate an electronic panel in order to activate a device which would release them to rest and
16 dairy calves learned to press an electronic panel to gain access to a social companion (Jensen
17 et al., 2004, Holm et al., 2002). Melin et al. (2005) reported that cows learned how to behave
18 in an operant system on traffic routines in an automatic milking system.

19 In Experiment 1 cows pushed a maximum of 49.0 kg on the gate to access fresh
20 TMR after milking. This was considered the gold standard to establish comparisons with
21 Experiment 2 and thus it was expected to be the harder work cows were willing to do for an
22 important commodity, i.e., food. A great effort was expected in Experiment 1 not in response
23 to feed deprivation, which was relatively short for bovines, but by the well established
24 behavior of feeding activity after milking, stimulated by feed delivery and the act of returning
25 from milking (DeVries et al., 2003, DeVries and von Keyserlingk, 2005). Kirkden and Pajor

1 (2006) reported that the highest effort an animal complete to access a reward is a direct
2 measure that estimates the value that the animal attaches to the specific resource.

3 Overall in Experiment 2 cows expressed a preference to be outdoors when social
4 companions were outdoors as well. They pushed greater weights in treatments (1) and (3)
5 compared to experiment 1. The aspect of acting in synchrony spontaneously and grouping
6 strategies having significant impacts on feeding behavior and feeding intake have been
7 reported for several authors (Conradt and Roper, 2000; Grant and Albright, 2001; Spinka et
8 al., 2004). Our findings support these statements and may indicate that social companions are
9 a valuable “resource” for dairy cows. According to Spinka (2012) animals’ affective states
10 interfere in the synchrony of groups and are a within-individual phenomena, coordinating
11 mechanisms that guide the animal to take appropriate actions.

12 Charlton et al. (2013) tested groups of cows’ motivation to access pasture by
13 maximum distance walked and reported that during daytime cows have been more motivated
14 to feed than to walk 140 or 260 m to pasture. In the current study, the sum of the social factor
15 altered cows’ preference, since they pushed high weights in the gate to join their social
16 partners outdoors even in hot days.

17 Number of attempts to push the gate to go outside reinforces the proposition group
18 cohesion tendency in dairy cows. Only two cows completed the task in treatment 2 and both
19 animals spent great part of their time outdoors remaining close to the gate (68.5 and 23.2 %
20 of the time) instead of on pasture near the unfamiliar group. When the familiar group was
21 outside, cows that completed the task stayed near the gate on average 3.5 % of the total time
22 of the test. Muller and Schrader (2005) showed that despite the long period of artificial
23 selection imposed to cattle, there is consistency in individual behavioral responses, which
24 reflects animals’ affective states and personality. Cows’ exposed to social isolation were

1 tested by the authors and animals behaved similarly throughout tests over two consecutive
2 lactations.

3 Completion of the task was not influenced by environmental factors. Cows seemed
4 to be consistent in pushing the gate in the morning and afternoon when social companions
5 were outdoors. In the current study air temperature outdoors reached 43.4° C and BGHI 91.1,
6 which are much greater than the 25.0 ° C recommended by Berman et al. (1985) and 75
7 recommended by Buffington et al. (1981), respectively. The findings were not similar to
8 those reported by Charlton et al. (2013) when daytime pasture use was affected by distance
9 from the indoor housing (60, 140 or 260 m) and cows spent less time on distant pasture
10 during the day. In this case cows were tested in groups and there was no social context
11 involved. The same was found by Spörndly and Wredle (2004) that showed that cows spent
12 more time during the day on near pasture (50 m) than distant pasture (260 m) when given a
13 choice.

14 In treatment 3 there was a slight reduction in the number of cows pushing the gate
15 that might be due to higher amount of weight on the gate, which could be achieved cows'
16 physical limit. We were unable to confirm this hypothesis.

17 Total time spent indoors in treatmes 1 and 3 (1.9%) were not similar to the 46%
18 reported by Legrand et al. (2009) and the 42.2% reported by Charlton et al. (2013). In the
19 current study once cows pushed the gate to go outside they were unable to go back into the
20 free-stall housing. This corroborates for the short time spent indoor, since latency to go out
21 was not greater than 11.5 minutes.

22

23

CONCLUSION

24

25 The results of the experiment support the hypothesis of group cohesion tendency in
dairy cows and indicate that motivation to access pasture does exist and is stronger when

1 paired with access to familiar social companions. Further studies are required to understand
2 other aspects of the choice of dairy cows in free-choice tests for pasture access.

4 ACKNOWLEDGMENTS

5 We thank the faculty, staff and students at the University of British Columbia's Dairy
6 Education and Research Centre and the University's Animal Welfare Program. M.A.G. von
7 Keyserlingk and D.M. Weary are supported by Canada's Natural Sciences and Engineering
8 Research Council (NSERC) Discovery program and the NSERC Industrial Research Chair
9 Program with industry contributions from the Dairy Farmers of Canada (Ottawa, ON,
10 Canada), Westgen Endowment Fund (Milner, BC, Canada), Pfizer Animal Health (Kirkland,
11 QC, Canada), BC Cattle Industry Development Fund (Kamloops, BC, Canada), the BC Milk
12 Producers (Burnaby, BC, Canada), BC Dairy Foundation (Burnaby, BC, Canada), BC Dairy
13 Education and Research Association (Abbotsford, BC, Canada), and Alberta Milk
14 (Edmonton, AB, Canada).

16 REFERENCES

- 17 Benham, P. F. J. 1982. Synchronization of behaviour in grazing cattle. *Appl. Anim. Ethol.*
18 8:403–404.
- 19
- 20 Berman, A., Y. Folman, M. Kaim, M. Mamen, Z. Herz, D. Wolfenson, A. Arieli, and Y.
21 Graberi. 1985. Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-
22 yielding dairy cows in a subtropical climate. *J. Dairy Sci.* 68:1488–1495.
- 23
- 24 Boissy, A. and B. Dumont. 2002. Interactions between social and feeding motivations on the
25 grazing behaviour of herbivores: sheep more easily split into subgroups with
26 familiar peers. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 79, 233–245.
- 27
- 28 Broom, D. M. 1988. The scientific assessment of animal welfare. *Appl. Anim. Behav. Sci.*
29 20:5.
- 30
- 31 Buffington, D. E., A. Collazo Arocho, G. H. Canton, D. Pitt. 1981. Black globe humidity
32 index (BGHI) as a comfort equation for dairy cows. *Trans. ASAE, St. Joseph.*
33 24:711-714.
- 34

- 1 Charlton, G. L., S. M. Rutter, E. Martyn, and L. A. Sinclair. 2011. Preference of dairy cows:
2 Indoor cubicle housing with access to a total mixed ration vs. access to pasture.
3 *Appl. Anim. Behav. Sci.* 130:1-9.
4
- 5 Charlton, G. L., S. M. Rutter, M. East, and L. A. Sinclair. 2013. The motivation of dairy cows
6 for access to pasture. *J. Dairy Sci.* 96:4387–4396.
7
- 8 Conradt, L., T. J. Roper. 2000. Activity synchrony and social cohesion: a fission-fusion
9 model. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B: Biol. Sci.* 267:2213–2218.
10
- 11 Dawkins, M. S. 1983. Battery hens name their price: consumer demand theory and the
12 measurement of ethological ‘needs’. *Anim. Behav.* 31:1195:1205.
13
- 14 DeVries, T. J., M. A. G. von Keyserlingk, and K. A. Beauchemin. 2003. *Short*
15 *Communication: Diurnal Feeding Pattern of Lactating Dairy Cows.* *J. Dairy Sci.*
16 86:4079–4082.
17
- 18 DeVries, T. J., and M. A. G. von Keyserlingk. 2005. Time of feed delivery affects the feeding
19 and lying patterns of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88:625-631.
20
- 21 De Vries, M., E. A. M. Bokkers, T. Dijkstra, G. van Schaik, I. J. M. de Boer. 2011. Invited
22 review: Associations between variables of routine herd data and dairy cattle welfare
23 indicators. *J. Dairy Sci.* 94:3213–3228.
24
- 25 Edmonson, A. J., I. J. Lean, L. D. Weaver, T. Farver, and G. Webster. 1989. A body
26 condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72:68–78.
27
- 28 Estevez, I., I.-L. Andersen, E. Nævdal. 2007. Group size, density and social dynamics in farm
29 animals. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 103:185–204.
30
- 31 Gibbons, J. M., A. B. Lawrence, M. J. Haskell. 2010. Measuring sociability in dairy cows.
32 *Appl. Anim. Behav. Sci.* 122: 84–91.
33
- 34 Grant, R. J. and J. L. Albright. 2001. Effect of animal grouping on feeding behavior and
35 intake of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 84: E156–E163 (E. Suppl.)
36
- 37 Hernandez-Mendo, O., M. A. G. von Keyserlingk, D. M. Veira, and D. M. Weary. 2007.
38 Effects of pasture on lameness in dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 90:1209-1214.
39
- 40 Holm, L., M. B. Jensen, L. L. Jeppesen. 2002. Calves’ motivation for acces to two different
41 types of social contact measured by operant conditioning. *Appl. Anim. Behav. Sci.*
42 79:175–194.
43
- 44 Hopster, H., H. J. Blokhuis. 1994. Consistent individual stress responses of dairy cows during
45 social isolation. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 40:83–84.
46
- 47 Jensen, M. B., L. Munksgaard, L. J. Pedersen, J. Ladewig, L. Matthews. 2004. Prior
48 deprivation affect the demand function for rest in dairy heifers. *Appl. Anim. Behav.*
49 *Sci.* 88:1-11.
50

- 1 Kirkden, R. D., and E. A. Pajor. 2006. Using preference, motivation and aversion tests to ask
2 scientific questions about animals' feelings. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 100:29-47.
3
- 4 Krohn, C. C. 1992. Behaviour of dairy cows kept in extensive (loose housing/pasture) or
5 intensive (tie stall) environments—III. Grooming, exploration, and abnormal
6 behaviour. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 42:73–86.
7
- 8 Legrand, A. L., M. A. G. von Keyserlingk, and D. M. Weary. 2009. Preference and usage of
9 pasture versus free-stall housing by lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 92:3651–
10 3658.
- 11 Matthews, L. R. and J. Ladewig. 1994. Environmental requirements of pigs measured by
12 behavioural demand functions. *Anim. Behav.* 47:713–719.
13
- 14 Melin, M., K. Svennersten-Sjaunja, H. Wiktorsson. 2005. Feeding patterns and performance
15 of cows in controlled cow traffic in automatic milking systems. *J. Dairy Sci.*
16 88:3913-3922.
17
- 18 Mench, J. A. and W. R. Stricklin. 1990. Consumer demand theory and social behaviour: All
19 chickens are not equal. *Behav. Brain. Sci.* 13:28 (Commentary).
20
- 21 Müller, R., L. Schrader. 2005. Behavioural consistency during social separation personality
22 in dairy cows. *Behav.* 142:1289-1306.
23
- 24 Munksgaard, L., M. B. Jensen, L. J. Pedersen, S. W. Hansen, L. Matthews. 2005. Quantifying
25 behavioural priorities – effects of time constraints on behaviour of dairy cows *Bos*
26 *taurus*. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 92, 3–14.
27
- 28 Pedersen, L. J., M.B. Jensen, S.W. Hansen, L. Munksgaard, J. Ladewig, L. Matthews. 2002.
29 Social isolation affects the motivation to work for food and straw in pigs as
30 measured by operant conditioning techniques. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 77:295–309.
31
- 32 Rushen, J., A. M. de Passillé, M. A. G. von Keyserlingk, and D. M. Weary. 2008. *The*
33 *Welfare of Cattle*. Springer Netherlands, Dordrecht, The Netherlands.
34
- 35 Sherwin, C. M. and C. J. Nicol. 1998. A demanding task: using economic techniques to
36 assess animal priorities. A reply to Mason et al. *Anim. Behav.* 55:1079–1081.
37
- 38 Sibbald, A. M., H. J. Russel. 2004. Sociability and willingness of individual sheep to move
39 away from their companions in order to graze. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 86:51-62.
40
- 41 Sibbald, A. M., H. W. Erhard, R. J. Hooper, B. Dumont, A. Boissy. 2006. A test for
42 measuring individual variation in how far grazing animals will move away from a
43 social group to feed. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 98:89–99.
44
- 45 Spinka, M., H. W. Gonyou, Y. Z. Li, L. A. Bate. 2004. Nursing synchronization in lactating
46 sows as affected by activity, distance between the sows and playback of nursing
47 vocalizations. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 88:13–26.
48
- 49 Spinka, M. 2012. Social dimension of emotions and its implication for animal welfare. *Appl.*
50 *Anim. Behav. Sci.* 138:170-181.

- 1 Spörndly, E., and E. Wredle. 2004. Automatic milking and grazing – Effects of distance to
2 pasture and level of supplements on milk yield and cow behavior. *J. Dairy Sci.*
3 87:1702–1712.
4
- 5 Veissier, I. and P. le Neindre. 1992. Reactivity of Aubrac heifers exposed to a novel
6 environment alone or in groups of four. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 33:11–15.
7
- 8 Washburn, S. P., W. J. Silvia, C. H. Brown, B. T. McDaniel, and A. J. McAllister. 2002.
9 Trends in reproductive performance in southeastern Holstein and Jersey DHI herds.
10 *J. Dairy. Sci.* 85:244-251.
11
- 12
- 13
- 14
- 15
- 16
- 17
- 18
- 19
- 20
- 21
- 22
- 23
- 24
- 25
- 26
- 27
- 28
- 29
- 30

1 Figure captions

2

3 **Figure 1.** Push-gate used to test cows motivation to access TMR and pasture.

4

5 **Figure 2.** Number of cows pushing the gate to access pasture paired with familiar and
6 unfamiliar social partners.

7

8 **Figure 3.** Number of cows attempting to push the gate (without success) to access pasture
9 paired with familiar and unfamiliar social partners.

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

1 Table captions

2

3 **Table 1.** Amount of weight (kg) placed on the gate for access to pasture for each cow tested,
4 according to the maximum weight pushed during the TMR test.

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

1 Cestari et al. Figure 1.

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

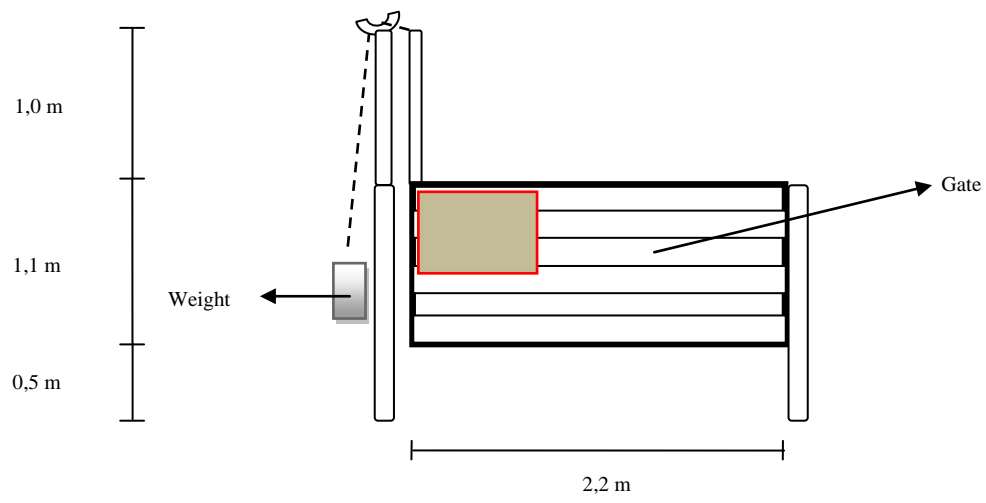
21

22

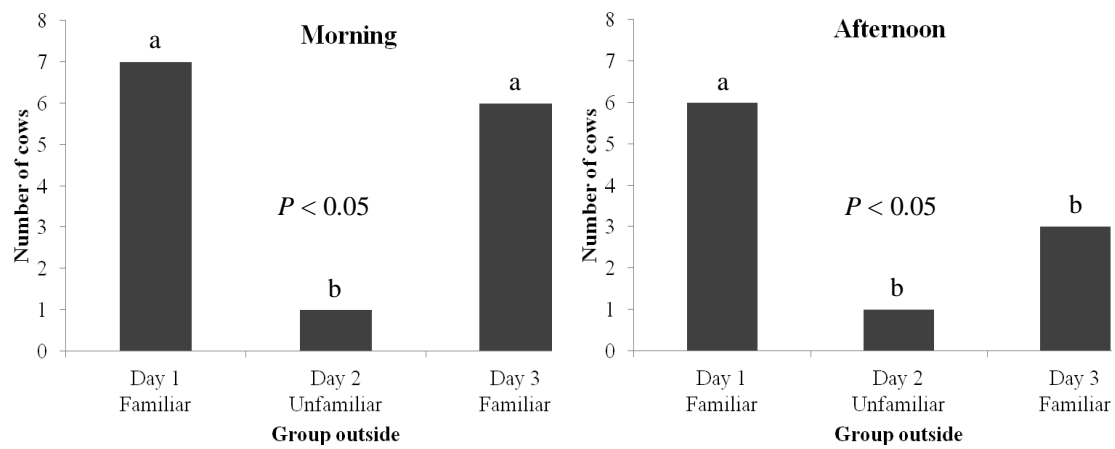
23

24

25



1 Cestari et al. Figure 2.



1 Cestari et al. Figure 3.

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

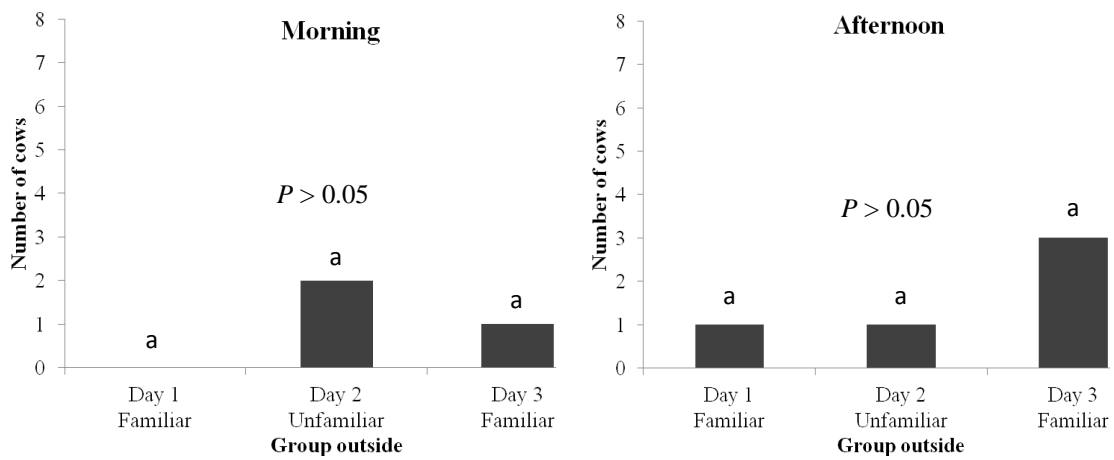
21

22

23

24

25



1 Cestari et al. Table 1.

Cow	Amount of weight on the gate (kg)			
	TMR test	Pasture test (group outdoors)		
		Day 1 Familiar	Day 2 Unfamiliar	Day 3 Familiar
1	49	56	56	63
2	28	35	35	42
3	42	49	49	56
4	28	35	35	42
5	28	35	35	42
6	35	42	42	49
7	49	56	56	63
8	42	49	49	56

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

6 ARTIGO 3³

Preferência de vacas leiteiras entre sistemas com pastagem convencional e silvipastoril

Preference of dairy cows between conventional grazing system and silvopastoral

Resumo

Os sistemas silvipastoris se caracterizam pela diversificação do uso da terra, nos quais cultivos arbóreos são explorados em integração com pastagens e criação de animais. Este trabalho avaliou o comportamento e a preferência de vacas em lactação por sistema silvipastoril (SSP) ou sistema convencional parcialmente sombreado (SC). Um teste de preferência foi aplicado. Vinte e quatro vacas foram divididas em oito subgrupos de acordo com (média \pm DP) dias em lactação ($215,7 \pm 76,8$ d), número de partos ($2,5 \pm 1,3$) e produção de leite ($13,2 \pm 2,9$ kg/vaca/d), alocadas aleatoriamente a um dos sistemas, SSP ou SC. Os grupo (n = 8) foram monitorados alternadamente durante três dias em cada sistema. Na fase de livre escolha os subgrupos do SSP e SC foram fundidos (n = 4) e monitorados por três dias. Durante a fase restrita as vacas pastaram em média 52,1 *versus* 47,7% do tempo total de observações ($P < 0,05$) e permaneceram deitadas ruminando em média 7,5 *versus* 11,4% no SSP e SC ($P < 0,01$), respectivamente. Na fase de livre escolha as vacas mostraram clara preferência pelo SSP. Apenas o tempo que os animais despenderam pastejando não diferiu entre os sistemas ($P = 0,0906$). No entanto, durante o período das 11:30 às 13:30 h. as vacas pastaram em média 26,2 *versus* 7,7 % ($P < 0,05$) no SSP e SC, respectivamente. O SSP proporcionou maior conforto aos animais com a redução da temperatura ambiente e do Índice de Temperatura de Globo e Umidade (ITGU). Portanto, vacas leiteiras manejadas a pasto mostraram preferência pelo sistema SSP e passaram mais tempo pastejando nesse sistema nas horas mais quentes do dia.

Palavras-chave: teste de preferência, bem-estar, conforto térmico

Abstract

Silvopastoral systems are characterized by the diversification of land use, where crops are integrated with pastures and livestock. This study assessed the behavior and preferences of dairy cows between silvopastoral system (SSP) or partially shaded conventional system (SC). A preference test was applied. Twenty-four lactating dairy cows were divided into eight subgroups according to (mean \pm SD) days in milk (215.7 ± 76.8 d), parity (2.5 ± 1.3) and milk production (13.2 ± 2.9 kg / cow / d), randomly allocated to one of the treatments, SSP or SC. Cows (n = 8) were monitored for three days alternately in each system. In the free choice phase subgroups were merged (n = 4) and monitored for

³Artigo redigido de acordo com as normas da revista Semina Ciências Agrárias.

three days. During the forced phase cows grazed on average 52.1 *versus* 47.7 % of the total time of observation ($P < 0.05$) and remained lying ruminating on average 7.5 *versus* 11.4% in the SSP and SC ($P < 0.01$), respectively. During the free choice phase cows showed a clear preference for the SSP. Only grazing time did not differ between treatments ($P = 0.0906$). However, during the period from 11:30 to 13:30 cows grazed on average 26.2 vs. 7.7 % ($P < 0.05$) in the SSP and SC, respectively. The SSP provided thermal comfort to the animals by reducing the ambient temperature and the BGHI. Therefore, dairy cows grazing on pasture showed a preference for SSP and spent more time grazing in this system during the hottest hours of the day.

Keywords: preference test, welfare, thermal comfort

Introdução

A criação a pasto, quando comparada aos confinamentos, em geral oferece aos animais mais espaço, menos interações negativas e melhor qualidade do ar, além de permitir a realização de comportamentos naturais como caminhar a pastejar (FALK et al., 2012). Porém, animais criados a pasto são diretamente afetados pelas intempéries climáticas em sistemas tradicionais e, nesse sentido, o sistema silvipastoril é apresentado como uma alternativa para este tipo de produção (PORFÍRIO-DA-SILVA, 2006).

Os sistemas silvipastoris são sistemas diversificados de uso da terra, nos quais cultivos arbóreos são explorados em integração com a pastagem. A conservação do solo e dos recursos hídricos, a promoção do sequestro de carbono e o aumento da biodiversidade estão entre os benefícios apontados na utilização desse sistema (DIAS-FILHO; FERREIRA, 2007).

A introdução do componente arbóreo na atividade pastoril complementa as vantagens desse sistema, pois incorpora ao sistema pecuário benefícios ambientais importantes do ponto de vista da sustentabilidade ambiental (ambiência animal, fixação de carbono); da sustentabilidade econômica (poupança verde); e da sustentabilidade social, por promover entradas de recursos distribuídas ao longo do tempo (desbastes e colheita final) (SILVA, 2009). A vegetação (árvores ou arbustos) tem sido identificada como fator que provoca decréscimo de até 26% na carga térmica radiante que incide sobre o solo e sobre os animais em pastejo, proporcionando a redução no aquecimento corporal e facilitando a termorregulação (KENDALL et al., 2006; SILVA et al., 2009).

A zona de conforto térmico corresponde aos limites de temperatura ambiente entre os quais o animal não necessita mobilizar recursos próprios termorreguladores para se ajustar às condições ambientais (PEREIRA, 2005). Para raças leiteiras especializadas como a Holandesa (*Bos taurus*) a temperatura ambiente de conforto está compreendida entre 0 e 16° C, com limites críticos de -10 e 27° C; enquanto para animais mestiços, estima-se limites de temperatura entre 5 e 31° C (PEREIRA, 2005; BAÊTA; SOUZA, 1997).

Alguns autores têm relatado que, especialmente no verão, verifica-se que o percentual de vacas comendo durante as horas mais quentes do dia é maior em ambientes sombreados (SILVA et al., 2009; SHULTZ, 1983; McDANIEL; ROARK, 1956), assim como é maior o tempo diário de rinação (SHULTZ, 1983). Ao contrário, vacas leiteiras passam menos tempo pastejando (PIRES et al., 1998) e mais tempo em pé, procurando aumentar a perda de calor, no verão em comparação ao inverno (ARMSTRONG et al., 1993). Para monitorar o conforto térmico de animais expostos a altas temperaturas e radiação solar intensa, o índice de temperatura de globo e umidade (ITGU) é considerado o mais apropriado, pois indica os efeitos combinados da radiação, convecção e sua influência no organismo vivo. Collier et al. (2006) afirmaram que este índice é indicado para medir o conforto térmico de bovinos, especialmente fora de ambientes de confinamento, por incluir o efeito da radiação solar que altera as condições ambientais em torno dos animais.

Quando avaliado o comportamento ingestivo de vacas e novilhas mestiças Holandês x Zebu em sistema silvipastoril, autores afirmaram que a provisão de sombra é uma das primeiras medidas a ser usada na modificação do ambiente para proteger o animal da alta incidência da radiação solar e, assim, amenizar o estresse calórico sofrido durante o dia (SILVA et al., 2009; LEME et al., 2005).

São encontrados na literatura poucos resultados de estudos científicos acerca dos efeitos da arborização da área de pastejo sobre o comportamento e bem-estar animal, sobretudo sobre a preferência dos animais entre os diferentes ambientes. Assim, o trabalho buscou avaliar o comportamento e preferência de vacas leiteiras em pastejo pelo sistema convencional (SC) ou sistema silvipastoril (SSP) e identificar melhoras no conforto térmico e mudanças no comportamento dos animais, ocasionadas pelo sombreamento da área de pastejo.

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido na Estação Experimental Raul Juliatto do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), em Ibiporã, Brasil, nos meses de janeiro e fevereiro de 2012. Foram utilizadas vacas em lactação mestiças Holandês x Zebu. As vacas eram ordenhadas duas vezes ao dia, às 7:00 e às 15:00 e recebiam suplemento concentrado após a ordenha da manhã e antes da ordenha da tarde. O concentrado foi fornecido de acordo com as exigências nutricionais de cada uma das vacas, levando em conta a produção de leite e exigências de manutenção.

Um teste de preferência dividido em duas fases foi aplicado: 1) fase restrita na qual os animais foram monitorados no sistema silvipastoril (SSP) ou sistema convencional (SC); 2) fase de livre escolha, quando os animais tiveram livre acesso aos dois sistemas. Na primeira fase vinte e quatro vacas foram divididas em oito subgrupos de acordo com (média \pm DP) dias em lactação ($215,7 \pm 76,8$ d), número de partos ($2,5 \pm 1,3$) e produção de leite ($13,2 \pm 2,9$ kg/vaca/d) e alocadas aleatoriamente a um dos sistemas, SSP ou SC. Os grupos de vacas ($n = 8$) foram monitorados alternadamente durante dois dias em cada sistema. Na fase de livre escolha os subgrupos do SSP e SC foram unidos ($n = 4$) e monitorados por dois dias.

Duas áreas experimentais adjacentes foram utilizadas, com aproximadamente um hectare cada, ambas formadas por grama do tipo estrela (*Cynodon nlemfuensis*) e subdivididas com cercas elétricas em piquetes com área de 200 m². Um novo piquete foi aberto diariamente para cada grupo de vacas sendo testado. A área que representou o sistema convencional oferecia apenas a sombra de uma árvore por piquete experimental. Já o sistema silvipastoril era formado por renques de eucaliptos (*Eucalyptus dunnii*) distando 15 m entre si e 2 m entre árvores.

Foram feitas observações visuais diretas (MARTIN; PATRICK, 1993) entre as ordenhas da manhã e da tarde e após a ordenha da tarde durante dois dias seguidos, em cada fase (restrita e de livre escolha). As atividades de pastejo, ruminação e ócio em pé e deitado foram notificadas em intervalos de 10 min por um período total de 9,5 h (das 09:30 às 13:30 e das 16:30 às 19:00), assim como a localização do animal durante a fase de livre escolha.

O tempo de repouso e o número de períodos que as vacas passaram em pé ou deitadas foram medidos automaticamente durante as 24 horas do dia utilizando *Data loggers* (Onset Comp, HOBO Pendant-G UA-004-64). Os aparelhos foram colocados na parte interna de uma das pernas traseiras de cada vaca e fixados com faixas látex (Co-flex). Registraram, em intervalos de 1 minuto, a posição do animal.

A temperatura dos animais foi medida com o uso de um termômetro digital infra-vermelho (ICEL TD-980). O termômetro era apontado para a região dorso lombar das vacas, em ambos os lados, obtendo-se a média. O observador mantinha-se a aproximadamente dois metros de distância do animal, apontando o termômetro, até a estabilização da medida. O procedimento foi repetido cinco vezes ao dia, às 09:30; 11:30; 13:30; 16:30 e 18:30.

A temperatura ambiente (TA), umidade relativa do ar (UM), temperatura de globo negro (TG) e a temperatura do ponto de orvalho (Tpo) foram monitoradas cinco vezes ao dia (às 09:30; 11:30; 13:30; 16:30 e 18:30), utilizando-se um equipamento portátil (Heat Stress Meter and Data Loger Red SD-2010). No SSP as medidas foram tomadas em dois pontos diferentes, sob a copa das árvores e no centro do piquete. Foi calculado o índice de temperatura de globo e umidade de acordo com a fórmula proposta por Buffington et al. (1981):

$$ITGU = T_{gn} + 0,36 T_{po} + 41,5$$

onde,

T_{gn}: temperatura do termômetro de globo negro

T_{po}: temperatura do ponto de orvalho

Amostras para disponibilidade e resíduo de massa de forragem foram colhidas um dia antes da entrada e um dia após a saída dos animais dos piquetes. Foi utilizado um quadrado com lados de 0,5 m e as amostras cortadas a 5 cm de altura em relação ao nível do solo (TOLEDO; SCHULTZE-KRAFT, 1982). A altura da forragem foi medida em 20 pontos em cada piquete, com o auxílio de uma régua. O material coletado, após pesado, foi subdividido em duas amostras. A primeira foi levada à estufa para secar a 65° C por 72h. no Laboratório de Nutrição Animal da Estação Experimental Raul

Juliatto (LNA) para obtenção da matéria seca parcial ou pré-secagem (ASA) da forragem. Foi feita a separação morfológica da segunda amostra obtendo-se a disponibilidade de folhas e a relação folha:colmo. A coleta foi realizada por um único amostrador em todo o período experimental, a fim de evitar variações.

O mapeamento da sombra disponível dentro do sistema silvipastoril foi feito após o término das avaliações com os animais, em duas áreas distintas com cerca de 360 m² cada. Linhas de barbante distando 1,5 m entre si foram dispostas sobre o solo, formando uma área quadriculada. Observadores notificaram o sombreamento ou não destas áreas em intervalos de uma hora, das 9:00 às 19:00.

Os dados foram analisados através do pacote estatístico SAS 9.1 (2002). Nas fases restrita (n=8) e de livre escolha (n=4) do teste de preferência, o tempo gasto nas atividades de pastejo, ruminação e ócio foi avaliado utilizando o PROC MIXED do SAS (SAS Institute Inc.). Variáveis climáticas e a temperatura da superfície corporal foram avaliadas para o sistema convencional e silvipastoril, nos cinco momentos do dia em que foram medidas, utilizando o PROC ANOVA do SAS (SAS Institute Inc.). A disponibilidade de pasto, assim como o tempo total de repouso foram avaliados entre os sistemas utilizando o PROC ANOVA do SAS (SAS Institute Inc.).

Resultados e Discussão

O sistema silvipastoril proporcionou média de sombreamento de $28,0 \pm 11,7$ % sobre o total da área sombreada (variando entre 5,9% e 44,2% das 9:00 às 19:00).

A temperatura ambiente no sistema silvipastoril medida sob a copa das árvores apresentou média de $27,4 \pm 3,5$ °C (intervalo de 20,4 a 35,9° C). No sistema convencional a temperatura ambiente apresentou média de $29,5 \pm 4,6$ °C (com intervalo de 20,4 a 38,7° C). Em ambos os sistemas a temperatura ambiente máxima atingiu valores superiores aos 31° C recomendados por Baêta e Souza (1997) para bovinos mestiços Holandês x Zebu. Porém ao longo do experimento a temperatura no SSP foi significativamente inferior ao SC ($P < 0,05$). A diferença média entre ambos os sistemas foi de 2,1° C; este resultado foi semelhante ao encontrado por Sartor et al. (2007), os quais relataram redução de 2,6° C em ambiente sombreado por árvores, comparado a um outro a céu aberto. Soares et al. (2009) não relataram diferença de temperatura entre ambiente a pleno sol e SSP, porém encontraram redução de 2,4° C na temperatura do solo em SSP com espaçamento de 15 x 3 m.

Não houve diferença significativa entre o ITGU encontrado no SC ($86,3 \pm 7,2$; intervalo de 71,2 a 98,6) e no centro dos piquetes do SSP ($86,1 \pm 8,5$; intervalo de 70,7 a 101,3). Porém, foi encontrada diferença significativa quando comparado o valor do ITGU no SSP sob a copa das árvores ($78,8 \pm 3,9$; intervalo de 70,8 a 87,9) ao ITGU observado no SC. Como aconteceu com a temperatura, ambos os sistemas atingiram valores superiores ao limite crítico de 75 indicado por Buffington et al. (1981), porém, no SSP os valores máximos encontrados foram significativamente inferiores ao apresentados no SC.

A umidade foi semelhante nos dois sistemas, discordando dos resultados apresentados por Soares et al. (2009). Os autores afirmaram que a velocidade do vento foi em média 51% inferior em bosques com espaçamento de 15 x 3 e 9 x 3 m, comparada à área aberta, o que aumentou significativamente a umidade.

A temperatura da superfície corporal das vacas apresentou média de $36,2 \pm 3,42^\circ \text{C}$ no SSP e $37,2 \pm 8,5^\circ \text{C}$ no SC. O SSP pode ter proporcionado melhor conforto térmico aos animais, já que manteve a temperatura do pelame mais próxima de 35°C , indicado por Collier et al. (2006) como valor crítico adequado para que ocorram trocas térmicas através da condução.

Durante a fase restrita os comportamentos em pé, em pé ruminando e deitada foram semelhantes entre SC e SSP. O tempo de pastejo foi superior no SSP (52,1%) em comparação ao SC (47,4%). Os resultados concordam com Ferreira (2010) que observou maior tempo de pastejo em ambiente sombreado, comparado a pleno sol. Da mesma forma, Mellace (2009) observou aumento do tempo de pastejo proporcional ao aumento da área de sombra disponível para novilhas leiteiras.

Ainda durante a fase restrita, as vacas permaneceram deitadas ruminando em média 7,5% do tempo no SSP *versus* 11,4% no SC. Como relatado por Carvalho (2001), o maior tempo gasto em uma das atividades tem como consequência a diminuição do tempo disponível para uma outra. Neste caso, o tempo de ruminação durante o dia no SSP parece ter sido substituído pelo pastejo. Já o valor superior para o tempo ruminando deitada no SC concorda com o que relatou Silanikove (2000). De acordo com o autor os ruminantes têm em geral hábitos diurnos, sendo ativos durante o dia e descansando durante a noite. Porém, em regiões de clima quente, os ruminantes tendem a repousar e reduzir sua locomoção durante o dia. A procura pela sombra é também uma adaptação comportamental característica e, caso a sombra não esteja disponível, o animal muda sua postura para a vertical, a fim de reduzir a área efetiva para a troca de calor (SILANIKOVE, 2000). Não houve diferença significativa entre o tempo total de repouso e o número de períodos em pé ou deitada.

Durante a fase de livre escolha do teste as vacas apresentaram preferência clara pelo SSP, como era esperado (Tabela 1). O tempo gasto nos comportamentos observados foi superior no SSP em comparação ao SC. Não houve diferença significativa entre SC e SSP apenas no tempo de pastejo. No entanto, durante o período das 11:30 às 13:30 as vacas despenderam mais tempo pastejando no SSP (26,2%) em comparação ao SC (7,7%) (Figura 1).

Silva et al. (2009) apresentaram resultados semelhantes, relatando ser maior o percentual de vacas comendo durante as horas mais quentes do dia em ambientes sombreados. No presente trabalho os animais não foram observados ao amanhecer, quando acontece o primeiro pico de pastejo (SILANIKOVE, 2000). É possível que os animais tenham estabelecido algum tipo de compensação dos comportamentos durante o período noturno, devido à impossibilidade de expressá-los durante o dia por causa das altas temperaturas.

A forragem apresentou maior teor de matéria seca no SC ($30,9 \pm 3,9\%$) em comparação ao SSP ($26,4 \pm 3,5\%$). Porém a altura média da forragem foi maior no SSP ($50,9 \pm 8,9 \text{ cm}$) em

comparação ao SC ($34,8 \pm 5,8$ cm), assim como a produção média em kg de de matéria natural por hectare, que foi de $15.813,4 \pm 3.245,7$ no SSP e $11.105,2 \pm 2.383,0$ no SC.

Soares et al. (2009) também relataram que a produção média de matéria seca de diferentes espécies forrageiras (como *C. dactylon* hib. Tifton-85) decresceu com a diminuição da intensidade luminosa em uma área arborizada com espaçamento 15 x 3 (9,55 kg/ha), comparada a uma outra área a céu aberto (24,01 kg/ha). Sob a copa das árvores o resultado foi ainda inferior (7,41 kg/ha). Segundo os autores a baixa produção nos menores espaçamentos arbóreos pode ser explicada pela baixa qualidade e quantidade de radiação que chega ao dossel no estrato inferior.

A relação folha:colmo foi superior no sistema convencional ($0,98 \pm 0,31$) em comparação so silvipastoril ($0,72 \pm 0,12$) concordando com os resultados apresentados por Paciullo et al. (2008), que relataram maior densidade populacional de perfilhos de *Brachiaria decumbens* em área com 18% de sombreamento. Ao contrário, Soares et al. (2009) não encontraram diferença na relação lâmina foliar:colmo entre áreas com diferentes níveis de sombreamento. Campos et al. (2007) também relataram não haver diferença nas taxas de alongamento de folhas e colmo entre áreas de pastagem a pleno sol ou com sombreamento moderado. No presente trabalho, a maior disponibilidade de folhas no sistema convencional pode ter influenciado os animais ao pastejo neste sistema após às 17:00 (Figura 1). Neste momento a temperatura ambiente apresentou média de $31,0^{\circ}$ C, ou seja, inferior ao limite máximo que indica conforto térmico para os animais (BAÊTA; SOUZA, 1997).

Conclusões

As vacas em lactação tem preferência pelo SSP, já que passaram mais tempo pastejando neste sistema durante as horas mais quentes do dia e desempenharam a maior parte de seus comportamentos neste sistema. O SSP favoreceu maior conforto térmico aos animais, no entanto a pastagem apresentou menor relação folha/caule em relação ao SC.

Referências

ARMSTRONG, D. V.; WELCHERT, W. T.; WIERNSMA, F. **Environmental modification for dairy cattle housing in arid climates: livestock environment**. Saint Joseph: American Society of Agricultural Engineers, 1993.

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

BUFFINGTON, D. E.; COLLAZO-AROCHO, A.; CANTON, G. H.; PITT, D.; THATCHER, R. J. Black globe-humidity index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. **Transactions of the ASABE**, v.24, n.4, p.711-714, 1981.

CAMPOS, N.R.; PACIULLO, D.S.C.; BONAPARTE, T.P.; NETTO, M.M.G.; CARVALHO, R.B.; TAVELA, R.C.; VIANA, F.M.F. Características Morfogênicas e Estruturais da *Brachiaria decumbens* em Sistema Silvistoril e Cultivo Exclusivo. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, supl.2, p.819-821, 2007.

CARVALHO, M.M. 2001. Contribuição dos sistemas silvistoris para a sustentabilidade da atividade leiteira. In: Simpósio sobre sustentabilidade de sistemas de produção de leite a pasto e em confinamento. Juiz de Fora, 2001. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, p. 85-108.

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

DIAS FILHO, M. B.; FERREIRA, J.N. Barreiras à adoção de sistemas silvistoris no Brasil. In: Fernandes, E. N.; Pacuillo, D. S.; Castro, C. R. T. de; Muller, M. D.; Arcuri, P. B.; Carneiro, J. da C.. (Org.). **Sistemas agrossilvistoris na América do Sul: desafios e potencialidades**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2007, p.327-340.

FALK, A.C.; WEARY, D.M.; WINCKLER, C.; von KEYSERLINGK, M.A.G. Preference for pasture versus freestall housing by dairy cattle when stall availability indoors is reduced. **Journal of Dairy Science**, v.95, p. 6409-6415, 2012.

FERREIRA, L.C.B. **Respostas fisiológicas e comportamentais de bovinos submetidos a diferentes ofertas de sombra**. 2010. 88 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

KENDALL, P.E.; NIELSEN, P.P.; WEBSTER, J.R.; VERKERK, G.A.; LITTLEJOHN, R.P.; MATTHEWS, L.R. The effects of providing shade to lactating dairy cows in a temperate climate. **Livestock Science**, v.103, p.148–157, 2006.

LEME, T.M.S.P.; PIRES, M.F.A.; VERNEQUE, R.S.; ALVIM, M.J.; AROEIRA, L.J.M. Comportamento de vacas mestiças Holandês x Zebu, em pastagem de *Brachiaria decumbens* em sistema silvistoril. **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, n.3, p.668-675, 2005.

MARTIN, P.; BATESON, P. **Measuring behavior: an introductory guide**. Cambridge: Cambridge University press, 1993. 2ed. 222p.

McDANIEL, A.H.; ROARK, C.B. Performance and grazing habitats of Hereford and Aberdeen-Angus cows and calves on improved pastures ad related to types of shade. **Journal of Animal Science**, v.15, p.59-63, 1956.

MELLACE, M. E. **Eficiência da área de sombreamento artificial no bem-estar animal de novilhas leiteiras criadas a pasto**. 2009. 95 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2009.

PACIULLO, D. S. C.; CAMPOS, N. R.; GOMIDE, C. A. M.; CASTRO, C. R. T.; TAVELA, R. C.; ROSSIELO, R. O. P. Crescimento de capim-braquiária influenciado pelo grau de sombreamento e pela estação do ano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.7, p.917-923, 2008.

PEREIRA, C.C.J. **Fundamentos de Bioclimatologia Aplicados à Produção Animal**. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2005.

PIRES, M. F. A.; VILELA, D.; VERNEQUE, R. S.; TEODORO, R. L. Reflexos do estresse térmico no comportamento de vacas em lactação. In: Simpósio Brasileiro de Ambiência na Produção de Leite, 1999, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FAPESP, 1998. p.68-99.

PORFIRIO-DA-SILVA, V. Sistemas silvipastoris para a produção de carne. In: PEDREIRA, C.G.S.; MOURA, J.C. de; DA SILVA, S.C.; FARIA, V.P. de (Ed.). **As pastagens e o meio ambiente**. Piracicaba: FEALQ, 2006. p. 297-326.

SARTOR, LR.; SOARES, A.B.; ADAMI, P.F. et al. Variação microclimática em ambiente com níveis de sombreamento. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44., 2007, Jaboticabal. **Anais...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Zootecnia, [2007] (CD-ROM).

SHULTZ, T.A. Weather and shade effects on cow corral activities. **Journal of Dairy Science**, v.67, p.868-873, 1983.

SILANIKOVE, N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v.67, p.1-18, 2000.

SILVA, L. L. G. G.; RESENDE, A. S.; DIAS, P. F.; SOUTO, S. M.; AZEVEDO, B. C.; VIEIRA, A. A. C.; TORRES, A. Q. A.; MATTA, P. M.; PERIN, T. B.; CAMPELLO, E. F. C.; FRANCO, A. **Conforto térmico em sistema silvipastorial com árvores dispersas**. 2009. Disponível em: <<http://www.sct.embrapa.br/cdagro/tema01/01tema67.pdf>>. Acesso em 12 set 2009.

SILVA, V. P. **O sistema silvipastoril e seus benefícios para a sustentabilidade da pecuária.** Disponível em: <http://www.cnpf.embrapa.br/pesquisa/safs/sist_silvipastoril_sust.pdf>. Acesso em 15 out. 2009.

SOARES, A.B.; SARTOR, L.R.; ADAMI, P.F.; VARELLA, A.C.; FONSECA, L.; MEZZALIRA, J.C. Influência da luminosidade no comportamento de onze espécies forrageiras perenes de verão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.3, p.443-451, 2009.

TOLEDO, J. M.; SCHULTZE-KRAFT, R. Metodologia para la evaluación agronomica de pastos tropicales. In: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). **Manual para la Evaluación Agronómica, Red Internacional de Evaluación de Pastos Tropicales.** Cali: J. M. Toledo, 1982. p. 91-110.

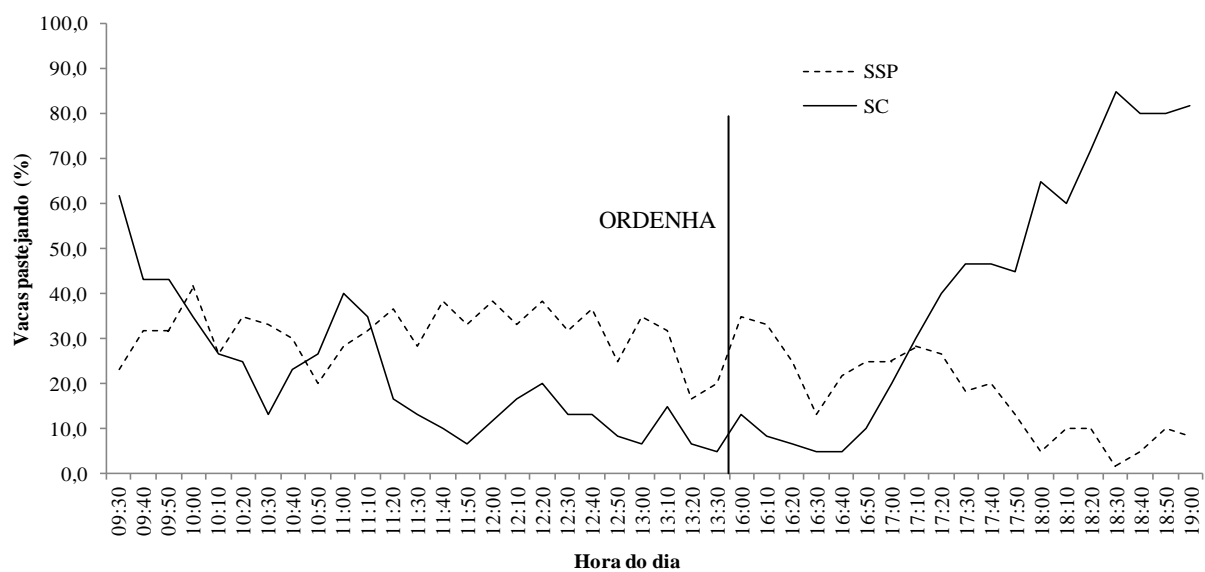
Legenda da Figura.

Figura 1. Porcentagem de vacas pastejando no sistema silvipastoril (SSP) e sistema convencional (SC) das 9:00 às 19:00.

Legenda da Tabela.

Tabela 1. Tempo (%) gasto por vacas em lactação em diferentes comportamentos, durante teste de preferência (fase de livre escolha) entre sistema silvipastoril (SSP) e sistema convencional (SC).

Cestari et al. Figura 1.



Cestari et al. Tabela 1.

Comportamentos	SC	SSP	Pr > F
Pastejando	31,36 ± 11,43	22,50 ± 10,47	0,0906 ^{NS}
Em pé	4,09 ± 4,77	22,95 ± 11,36	0,0002**
Deitada	0,91 ± 2,87	5,45 ± 3,07	0,0038**
Deitado ruminando	0,00 ± 0,00	2,95 ± 4,02	0,0174*
Em pé ruminando	0,23 ± 0,72	9,55 ± 4,52	<,0001**

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A preocupação com o bem-estar animal é crescente e demanda mais estudos, especialmente pesquisas que gerem resultados de caráter prático e respondam à demanda da sociedade sobre questões relacionadas a este tema.

O presente trabalho utilizou testes de preferência e motivação procurando estudar o bem-estar de vacas em lactação e seu estado afetivo, ou seja, como estes animais se sentem em relação aos ambientes onde são criados. Os resultados mostraram que a metodologia é eficiente para alcançar os objetivos propostos, desde que a pesquisa seja bem delineada e os resultados avaliados de maneira correta.

Vacas em lactação mostraram-se também capazes de aprender a executar uma tarefa em um teste de motivação, para obter o recurso desejado. Este resultado é de extrema importância, já que são poucas as pesquisas semelhantes na literatura atual.

Futuros testes devem ser aplicados procurando elucidar quais componentes, nos diferentes sistemas, influenciam a preferência dos animais. Assim, será possível desenvolver sistemas e ambientes de criação que favoreçam, além do produtor rural, também os animais.

ANEXOS

ANEXO 1

Journal of Dairy Science – Instructions for Authors

J. Dairy Sci. 96:Instructions 1–17

© American Dairy Science Association®, 2013.

Editorial Policies and Procedures

The American Dairy Science Association® (ADSA®) invites scientists from the global community to submit papers for consideration to the *Journal of Dairy Science*.

Authors need not be members of ADSA.

These instructions detail the form and style required by the *Journal of Dairy Science* (JDS) for papers submitted

for publication. Papers that do not follow the form and style of the journal may be rejected without review. We recommend that authors refer to these instructions when preparing manuscripts, when incorporating requested changes into revisions after review, and when checking author proofs.

Contact Information for Journal Staff

For information on the scientific content of the journal, contact the editor-in-chief, Dr. Roger D. Shanks; phone: (217) 344-7512; e-mail: rdshanks@illinois.edu. For assistance with Manuscript Central, Manuscript Submission/Copyright forms, and page charge/offprint orders contact Shauna Miller, Editorial Assistant, Headquarters Office, 1800 S. Oak St., Suite 100, Champaign, IL 61820; FAX (217) 378-4083; shaunam@assoqh.org.

For other information or to submit a paper, contact Susan Pollock, Managing Editor, Headquarters Office, American Dairy Science Association, 1800 S. Oak St., Suite 100, Champaign, IL 61820; phone (217) 356-7641; FAX (217) 378-4083; journals@assoqh.org.

Care and Use of Animals

All research animals should be acquired, retained, and used in compliance with federal, state, and local laws and regulations. The authors should state explicitly that IACUC (or equivalent) approval was obtained before commencement of the study. Authors should make it clear that experiments were conducted in a manner that avoided unnecessary discomfort to the animals by the use of proper management and laboratory techniques. Experiments should be conducted in accordance with the principles and specific guidelines presented in *Guidelines for the Care and Use of Agricultural*

Animals in Research and Teaching, 3rd ed. (available from Federation of Animal Science Societies, 1800 S. Oak St., Suite 100, Champaign, IL 61820; <http://www.fass.org/>). Methods of killing experimental animals must be described in the text. When describing surgical procedures, the type and dosage of the anesthetic agent must be specified.

Human Subjects Research

If human subjects were involved in research (e.g., surveys, sensory panels, or other participation), the authors certify that the studies complied with all appropriate

laws, regulations, and policies governing the use of human subjects in research.

Types of Articles

Full-Length Research Papers. The majority of papers published in JDS are full-length research articles. The journal emphasizes the importance of good scientific

writing and clarity in presentation of the concepts and methods, and sufficient background information that would be required for thorough understanding by scientists in other disciplines. The results of experiments published in the journal must be replicated, either by replicating treatments within experiments or by repeating experiments.

In addition to full-length research papers, the following types of articles appear in the journal:

Our Industry Today. The Our Industry Today section includes interpretive applied summaries and recommendations from research that are useful to the dairy industry. Syntheses and applications from technical

reports that contribute to solutions of problems in the dairy industry especially are solicited. Authors of reports for extension education of the nonscientist are encouraged to share their contributions with colleagues and to achieve larger circulation of their conclusions and recommendations through this section. In addition, papers that report on advances in teaching and outreach techniques are suitable for this section. The organization of papers for Our Industry Today may vary but should be logical and effective; an abstract is required. All other style and form instructions apply.

Hot Topics. Papers submitted for this section must report on a completed experiment testing a timely, original hypothesis of importance to an area of dairy science. The work may be preliminary in nature, but with sufficient data so that the hypothesis is clearly tested. Results may point to avenues for fruitful, in-depth

analyses. Reports must contain an explicitly stated hypothesis and objectives, with sufficient detail in methodology for repetition of the work, as well as a results section, a brief discussion, and references. Total page limits for text, tables, figures, and references must be no more than 4 journal pages (approximately 10 typewritten pages minus space for tables and figures).

The manuscript should contain a title and short abstract but not separate sections. The total number of tables and figures should be no more than 3; references should be minimal. The first page must have HOT TOPICS in capital letters on the header line.

These papers will be given priority for publication. An effort will be made to notify authors of a decision within 1 mo of the date of receipt. Once accepted, the

paper should be published within 3 mo.

Short Communications. Short communications are reports of limited experiments that test a timely, original hypothesis of importance to some area of dairy science. The manuscript should be no more than 4 journal pages in length (approximately 10 typewritten pages minus space for tables and figures); "*Short communication.*"

should precede the title on the title page of the manuscript. Short communications should not contain main headings (e.g., Introduction, Materials and Methods) but may include subheadings for clarity. The manuscript may report negative results. Reports must contain a hypothesis, objectives, sufficient detail in methodology for repetition of the work, results with brief discussion, and references.

Technical Notes. Papers in this section should report a method that is useful to some aspect of dairy science. Submissions should include a brief justification

for the technique, be it new or an improvement on a previously published technique. The report should state a hypothesis, include a full description of procedures

that can be repeated by researchers, and include explicit controls to indicate sensitivity, precision, and accuracy of the technique. Technical notes should not contain main headings (e.g., Introduction, Materials and Methods) but may include subheadings for clarity.

If the technique is an improvement on an existing technique, sufficient comparison of the previous technique should be included, and mean and dispersion information must be included. The page limit is 4 printed pages (approximately 10 typewritten pages minus space for tables and figures). Use of tables, figures,

and references should be minimized. Requests for longer technical notes may be made to the senior editor and editor-in-chief, but justification for a longer report will be required.

Invited Reviews. The mechanism for consideration of invited reviews is to encourage additional publication

(~10 to 12 per year) of invited reviews in all sections of the journal. Section editors will advise the editor-in-chief

on suggested reviewers and justification for the review. The editor-in-chief will make the invitation and the invited reviews editor will ensure the quality of the review. The first 10 printed pages of an invited review are published at no cost to the author.

Authors of symposium papers and invited papers presented at the joint annual meeting of

ADSA/American Society of Animal Science may be selected to contribute

invited review papers.

Letters to the Editor. Short (300 words) letters to the editor on topics of concern to readers, including comment on publications with rebuttals from authors if needed, may be submitted to the editor-in-chief or to

any of the editors. The letters should be titled, and the title and running head should include "Letter to the editor." Letters will be published at the discretion of the editor-in-chief. Authors of letters are subject to the same copyright release requirements as other authors. Letters are published at no charge to the author(s).

Biographical Sketches. Occasionally, retiring or past scientists and educators should be subjects of biographical essays, both as a small honor to them and as an example and history for other readers. This section brings a sense of maturity and completeness to our field. Individuals who wish to submit biographical sketches should contact the editor-in-chief or one of the editors for additional instructions.

SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

Authors should submit their papers online at Manuscript

Central (<http://mc.manuscriptcentral.com/jds>).

Detailed instructions for submitting electronically are provided online (<http://mc.manuscriptcentral.com/jds>). Authors who are unable to submit online should contact Shauna Miller, Editorial Assistant, American Dairy Science Association, 1800 S. Oak St., Suite 100, Champaign, IL 61820 (shaunam@assoqh.org).

Copyright Agreement

Data (including graphs, figures, tables, and illustrations)

must not have appeared in print elsewhere except as abstracts, local or regional field day reports, extension letters, or non-peer-reviewed, noncopyrighted

proceedings of conferences. Material submitted to JDS should not be submitted for publication to popular magazines, company advertisements, or organizational proceedings until the author has received notification of

acceptance of the manuscript. Before manuscripts are submitted, authors should have them read critically by others well versed in English to facilitate review, and the senior author should have authorization to publish. All coauthors should approve the manuscript before its submission to the journal.

The Manuscript Submission and Copyright Release form (published in issues of the journal and available from the journal web site: <http://www.journalofdairy-science.org/>) should be submitted for each paper; faxed copies are acceptable. The copyright agreement is included

in the Manuscript Submission and Copyright Release Form; manuscripts cannot be published without

this form. The corresponding author is responsible for obtaining the signatures of all coauthors. Authors who are not permitted to release copyright must still return the form with a statement of the reason for not releasing the copyright.

Requests to reproduce material published in JDS must be made through Elsevier's Rights Department (permissions@elsevier.com), online via the Elsevier homepage (<http://www.elsevier.com/locate/>

permissions), or via the Copyright Clearance Center (<http://www.copyright.com>). The Association grants to the authors the right of republication of their own material in any book, thesis, or dissertation of which they are authors or editors subject only to giving proper credit in the book to the original JDS publication.

In addition, authors may post abstracts of manuscripts on the web at the time of submission. Once an author receives notification of acceptance, the peer-reviewed, pre-typesetting manuscript can be posted to the author's website. Authors may deposit their peer-reviewed, pre-typesetting manuscript into a repository upon payment of the open access fee (see page 4 of these instructions). For more information, read the "Terms and Conditions" pages at <http://www.journalofdairyscience.org/>.

REVIEW OF MANUSCRIPTS

Upon submission to JDS, a manuscript is assigned to an editor, who enlists reviewers to assist in the evaluation of the manuscript. The review process is confidential, which infers a bond of trust among the authors, editor, and reviewers. The editor is trustee of the manuscript until the review process is completed and ensures that the review process is fair, thorough, and confidential. Reviewers are asked not to share the contents of the manuscript with anyone, except that they may ask a colleague to assist with the review with approval of the editor. Communication with authors should only be through the editor. Reviewers should notify the editor of conflicts of interest that may compromise their ability to provide a fair and unbiased review. Moreover, they must recognize their responsibility in maintaining the confidential nature of the review. Authors should suggest names of appropriate reviewers when submitting the manuscript to streamline the review process and may list reviewers whom they consider unacceptable because of potential bias. These recommendations will be considered by the editor when assigning reviewers.

A reviewed paper returned to authors for revision must be returned to the editor within 6 wk. If not, the paper may be treated as a new submission. Under unusual circumstances, editors may extend the revision deadline beyond 6 wk.

The *Journal of Dairy Science* follows the guidelines of the Committee on Publication Ethics (COPE; publicationethics.org) and authors should refer to COPE for guidance on authorship and publication ethics.

PRODUCTION OF PROOFS

Accepted manuscripts are forwarded by the section editors to the editorial office for technical editing and composition. At this point the technical editor may

contact the authors for missing information or figure revisions. The manuscript is then typeset, figures reproduced, and author proofs prepared.

Proofs

Author proofs will be sent by e-mail (in PDF format) to the corresponding author. Although the proof appears

in a 2-column page format, it should be considered a galley proof; page layout may change when the article is paginated into an issue. Author proofs should be read carefully and checked against the typed manuscript,

because responsibility for proofreading lies with the authors. Corrections may be returned by fax, mail, or e-mail. The Comments feature in Adobe Acrobat or Adobe Reader may be used to insert changes and comments

within the proof PDF. For faxed or mailed corrections, changes to the proof should be made neatly and clearly in the margins of the proof. If extensive editing is required, corrections should be provided on a separate

sheet of paper with a symbol indicating location on the proof. Changes sent by e-mail to the technical editor

must indicate page, column, and line numbers for each correction to be made on the proof. Author queries

should be answered on the galley proofs; failure to do so may delay publication.

Proof corrections should be made and returned to the technical editor within 3 days of receipt. Publication

cannot proceed until proofs are returned. Contact a technical editor at journals@assochoq.org if you have questions about the proof correction process.

4 *Journal of Dairy Science* Instructions to Authors
Journal of Dairy Science 2013

Publication Costs

The *Journal of Dairy Science*® offers two options for publication of articles: Standard Page Charges and Open Access.

Standard Page Charges: The current charge for publication is \$85 per printed page in the journal for articles if at least one author is a professional member of ADSA. If no authors are ADSA members, the publication charge is \$140 per journal page. The cost to publish a color figure is \$995 (per figure) plus an offprint surcharge. There is charge for all offprints and reprints. An offprint order form will be sent to the corresponding author with the author proof.

Open Access: Under the open access (OA) policy, authors may choose to pay the OA fee **in lieu of standard**

page charges when author proofs are returned so that their paper becomes freely available upon publication

in an online issue. The OA fee is \$1750 if at least one author is a professional member of ADSA or

\$3500 if no authors are ADSA members. Open access articles will be freely accessible through the journal's web site (<http://www.journalofdairyscience.org/>) at the time of publication. All other (non-OA) articles become freely available without a subscription 12 months after publication.

Articles for Deposit: Author(s) publishing articles under open access shall bear sole responsibility for meeting the specific posting requirements of their funders. Upon payment of the OA fee, authors may deposit the accepted (peer-reviewed pre-typeset only) manuscript in a repository. The embargo period before deposit in a repository is 12 months (or as specified by the funder) after publication in a journal issue.

By signing the Manuscript Submission and Copyright Release Form at the time of submission, the authors agree to bear responsibility for payment of publication charges. Invoices for publication charges will be issued at the time an issue goes to press (approximately 2 weeks before an issue is published online). Payment is due within 30 days of receipt

of the invoice. The preferred method of payment is by credit card, with credit card details submitted on the page charge form sent out with the author's proof. Payment may be made by check, drawn on a US bank. For payments by wire transfer, contact Vicki Paden at vickip@assoqh.org. **Manuscripts will be withheld from publication for authors (and their co-authors) with past-due page charge invoice(s) until all prior payment obligations have been met.**

Page Charge Waivers

Authors who must use personal funds to pay for page charges and for whom such charges would entail hardship can request of the editor-in-chief that these charges be waived, under the following conditions: 1) the request must be made in writing **at the time the manuscript is submitted**; 2) the request should be accompanied by a statement from a financial officer or other official from the institution with which the author is affiliated, indicating the reasons why page charges cannot be paid; and 3) if the waiver is granted, the author is expected to become a professional member of ADSA. Only one waiver will be granted per institution per twelve-month period. Authors who request waivers cannot order offprints. Full or partial waivers will be granted at the discretion of the editor-in-chief. Offprints may be ordered at an additional charge. Offprints will be shipped approximately 1 month after publication of the issue. Invoices for offprints will be sent to the author or institution shown on the page charge and offprint order form. There is a charge for all offprints.

MANUSCRIPT PREPARATION: STYLE AND FORM

General

Papers must be written in English. The text and all supporting materials must use American spelling and usage as given in *Merriam-Webster's Collegiate*

Dictionary, 11th ed., Webster's Third International Dictionary,

or the *Oxford American English Dictionary.*

Authors should follow the style and form recommended

in *Scientific Style and Format. The CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers*, 7th ed., published by the Council of Science Editors in cooperation with The Rockefeller University Press.

Authors should prepare their manuscripts in Microsoft Word (.doc or .docx format) and upload them using the fewest files possible to facilitate the review and editing processes.

Preparing the Manuscript File

Manuscripts should be typed double-spaced (in Microsoft Word) with lines and pages numbered consecutively,

using Times New Roman font at 12 points.

Special characters (e.g., Greek, math, symbols) should be inserted using the symbols palette available in this font. Complex math should be entered using MathType from Design Science (www.dessci.com). Note that equations

created using the Equation Builder in Microsoft Word 2007 (and later versions) may not be compatible with earlier versions of Word or other software used in our composition system. Tables and figures should be placed in separate sections at the end of the manuscript

(not placed within the text). Failure to follow Journal of Dairy Science 2013

Journal of Dairy Science Instructions to Authors 5 these instructions may result in immediate rejection of the manuscript.

Interpretive Summary

All authors of JDS papers should provide an interpretive summary (IS) of 100 words or less that has been written for nonspecialist readers. That summary should consist of a title, the first author's last name, and a summary, which must include a sentence or two to summarize the project's expected importance, or its economic, environmental, and/or social impact (similar to the CRIS Progress Report Statement for those who must complete that form). Common abbreviations are permitted (those from the JDS Unrestricted list). The summary should appear on top of the first page of the manuscript, before the running head and title. Interpretive

summaries will be peer reviewed. At publication, interpretive summaries will appear in a section at the beginning of the journal. The summaries are intended for an audience who may not be familiar with work in the author's area of expertise and for government or media researchers, and they will provide JDS readers with a brief overview of the research presented in each issue. Authors must make the summary readable by the general public. The goal is to make JDS research more visible to a wider audience and to emphasize its impact.

Headings

Major Headings. Major headings are centered (except ABSTRACT), all capitals, boldface, and consist of ABSTRACT, INTRODUCTION, MATERIALS AND METHODS, RESULTS, DISCUSSION (or RESULTS AND DISCUSSION), CONCLUSIONS (optional), APPENDIX (optional), and REFERENCES.

First Subheadings. First subheadings are placed on a separate line, begin at the left margin, the first letter of all important words is capitalized, and the headings are boldface and italic. The heading is not followed by punctuation. Text that follows a first subheading should be in a new paragraph.

Second Subheadings. Second subheadings begin the first line of a paragraph. They are indented, boldface, italic, and followed by a period. The first letter of each important word should be capitalized. The text follows immediately after the final period of the subheading.

Title Page

Across the top of the title page (first page), indicate a running head (abbreviated title) of 45 characters or less. The running head is centered and all uppercase. Our Industry Today and Hot Topic serve as the running heads for those respective article types. Short Communications, Technical Notes, Invited Reviews, and Letters to the Editor use a running head beginning with the appropriate designation (i.e., SHORT COMMUNICATION:) followed by a short title.

The title should be in boldface; the first letter of the article title and proper names are capitalized and the remainder of the title is lowercase. The title should contain words or phrases used for indexing the article. Under the title, names of authors should be typed in mixed case (e.g., T. E. Smith or Tom E. Smith) and in boldface. Institutional addresses are displayed below the author names; footnotes referring from author names to displayed addresses should be symbols in the following order: *, †, ‡, §, #, ||, and ¶. The full name, mailing address, phone number, fax number, and email address of the corresponding author should appear directly below the affiliation lines on the title page. The corresponding author will be identified by a numbered footnote and e-mail address below the accepted line on the first page of the published article (e.g., 1Corresponding author: my.name@university.edu). Supplementary address information may be given in footnotes to the first page; use numerals for these footnotes. Acronyms (except USDA) for affiliations are discouraged unless the acronym is the official name. State or provincial postal code abbreviation is not included between city and zip code if the state or province is previously mentioned in the address (see example). Acceptable format

is shown below:

J. E. Smith,* R. A. Jones,† and A. T. Peters‡

*Department of Animal Science, and

†Department of Dairy Science, University of Wisconsin, Madison 53706

‡Department of Animal Science, Utah State University, Logan 84321

Abstract. Abstracts should be limited to 2,500 keystrokes (i.e., characters plus spaces). The abstract should review important objectives, materials, results, conclusions, and applications as concisely as possible. The abstract disseminates scientific information through abstracting journals and is a convenience for readers. Open the abstract with objectives and make the abstract intelligible without reference to the manuscript.

Use complete sentences and standard terms.

Limit the use of abbreviations in the Abstract. Refer to the list on the inside front cover of JDS or Appendices 1 and 2 of this document for those terms that should be defined in the abstract. If a term is used fewer than 3 times in the abstract, it should be spelled out at each use.

6 *Journal of Dairy Science* Instructions to Authors
Journal of Dairy Science 2013

Minimize the amount of data in the abstract and exclude statements of statistical probability (e.g., $P < 0.05$). Exclude references to other work because the abstracts will appear online and in indexing services without the reference list.

Key Words. After the abstract, list 2 to 4 key words or phrases; they should be typed in lowercase letters and separated by commas. Key words should be singular (e.g., “dairy cow” not “dairy cows”).

Abbreviations

Author-derived abbreviations should be defined at first use in the abstract, and again in the body of the manuscript, and in each table and figure in which they are used. The abbreviation will be shown in bold type at first use in the body of the manuscript. Refer to the Miscellaneous Usage Notes for more information on abbreviations.

Body of the Paper

The body of the paper should contain an introduction to the problem (questions, objectives, reasons for research, and related literature); materials, methods, experimental design, and procedures; and results, discussion, conclusions, and applications.

Results and discussion may be combined into a single section. If not, the results section should not contain discussion of previously published work. Results and references to tables and figures already described in the results section should not be repeated in the discussion section. The conclusions section (optional) should consist of one brief paragraph summarizing the main findings of the study.

Appendix

A technical appendix, if desired, shall follow the References

section. The appendix may contain supplementary material, explanations, and elaborations that are not essential to other major sections but are helpful to the reader. Novel computer programs or mathematical computations would be appropriate. The appendix will not be a repository for raw data.

References

List only pertinent references. No more than 3 references

should be needed to support a specific concept.

Research papers and reviews should cite a reasonable number of references. Abstracts and articles from nonpeer-

reviewed magazines and proceedings should be cited sparingly. Citation of abstracts published more than 3 yr ago is strongly discouraged.

Citations in Text. In the body of the manuscript, refer to authors as follows: Smith and Jones (1992) or Smith and Jones (1990, 1992). If the sentence structure requires that the authors' names be included in parentheses,

the proper format is (Smith and Jones, 1982; Jones, 1988a,b; Jones et al., 1993) with citations listed chronologically (i.e., oldest first) and then alphabetically

within a year. Where there are more than 2 authors of one article, the first author's name is followed by the abbreviation et al. Work that has not been accepted for publication shall be listed in the text as follows: "J. E. Jones (institution, city, and state, personal communication)."

The author's own unpublished work should be listed in the text as "(J. Smith, unpublished data)."

Personal communications and unpublished data (including papers under review) must not be included in the references section.

References Section. To be listed in the references section, papers must be published or accepted for publication.

Manuscripts submitted for publication can be cited as "unpublished data" in the text. In the references

section, references shall first be listed alphabetically by author(s)' last name(s), and then chronologically. The year of publication follows the authors' names. As with text citations, two or more publications by the same author or set of authors in the same year shall be differentiated

by adding lowercase letters after the date. The dates for papers with the same first author that would be abbreviated in the text as et al., even though the second and subsequent authors differ, shall also be differentiated

by letters. All authors' names must appear in the reference section. Journals shall be abbreviated according to the conventional ISO abbreviations used

by

PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=journals>).

A short list of journal title abbreviations

is provided in Appendix 3 of this document. Oneword titles are spelled out. Inclusive page numbers must be provided and digital object identifiers (doi) should be provided whenever possible. Sample references are given below.

Journals

Buch, L. H., A. C. Sorensen, J. Lassen, P. Berg, J.-A. Eriksson, J.

H. Jakobsen, and M. K. Sorensen. 2011. Hygiene-related and feed-related hoof diseases show different patterns of genetic correlations to clinical mastitis and female fertility. *J. Dairy Sci.*

94:1540–1551. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2010-3137>.

Chapinal, N., A. M. de Passille, D. M. Weary, M. A. Hayes, B. J., P.

J. Bowman, A. C. Chamberlain, K. Savin, C. P. van Tassell, T.

S. Sonstegard, and M. E. Goddard. 2009. A validated genomewide association study to breed cattle adapted to an environment

altered by climate change. *PLoS ONE* 4:e6676.

de Vries, M. J., and R. F. Veerkamp. 2000. Energy balance of dairy cattle in relation to milk production variables and fertility. *J.*

Dairy Sci. 83:62–69.

Journal of Dairy Science 2013

Journal of Dairy Science Instructions to Authors 7

Jenkins, T. C., E. Block, and P. H. Morris. 2011. Potassium

reduces the accumulation of *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic

acid and *trans*-18:1 in continuous cultures of mixed ruminal

microorganisms regardless of dietary fat level. *J. Dairy Sci.*

94(E-Suppl. 1):509. (Abstr.)

VanRaden, P. M. 2008. Efficient methods to compute genomic

predictions. *J. Dairy Sci.* 91:4414–4423.

Books

AOAC International. 2012. *Official Methods of Analysis*. 19th ed.

AOAC International Gaithersburg, MD.

Goering, H. K., and P. J. Van Soest. 1970. *Forage Fiber Analyses*

(Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Applications).

Agric. Handbook No. 379. ARS-USDA, Washington, DC.

Lengemann, F. W., R. A. Wentworth, and C. L. Comar. 1974.

Physiological and biochemical aspects of the accumulation of contaminant radionuclides in milk. Pages 159–170 in *Lactation: A Comprehensive Treatise. Nutrition and Biochemistry of Milk/Maintenance*. Vol. 3. B. L. Larson and V. R. Smith, ed. Academic Press, London, UK.

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

Conferences

Barbano, D. M. 1996. Mozzarella cheese yield: Factors to consider.

Page 29 in *Proc. Wisconsin Cheese Makers Mtg. Ctr. Dairy Res.*, Univ. Wisconsin, Madison.

National Mastitis Council. 1995. Summary of peer-reviewed publications on efficacy of premilking and postmilking teat

disinfections published since 1980. Pages 82–92 in *Natl. Mastitis Counc. Reg. Mtg. Proc.*, Harrisburg, PA. Natl. Mastitis Counc., Inc., Madison, WI.

Other

Biernoth, G., and W. Merk, inventors. 1985. Fractionation of milk fat using a liquified gas or a gas in the supercritical state. Unilever NV-PLC, assignee. US Pat. No. 4,504,503.

FASS. 2010. *Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching*. 3rd ed. Federation of Animal Science Societies, Champaign, IL.

Interbull. 2008. Genetic evaluation. Direct longevity. Accessed Dec. 20, 2012. <http://www-interbull.slu.se/longevity/l-aug08.html>.

Kelly, M. G. 1977. Genetic parameters of growth in purebred and crossbred dairy cattle. MS Thesis. North Carolina State Univ., Raleigh.

US Department of Agriculture, Plant and Animal Health Inspection Service. 2004. Blood and tissue collection at slaughtering and rendering establishments, final rule. 9CFR part 71. Fed. Regist. 69:10137–10151.

Tables

The use of tables should be minimized. When used, tables should be self-explanatory and may be the most effective way to organize extensive data. Refer to *Scientific Style and Format: The CSE Manual for Authors*,

Editors, and Publishers for more information on effective use of tables. Table 1 in this document may be used as an example.

Tables must be prepared using the table feature in Microsoft Word; tables prepared in other programs (e.g., Excel) or by using spaces, tabs, and hard returns will not convert accurately and errors can result. When possible, tables should be organized to fit across the page without running broadside. Be aware of the dimensions of the printed page when planning tables (use of more than 15 columns may create layout problems).

Place table number and title on the same line above the table (as shown in sample table). The table title does not require an ending period. Do not use vertical lines and use few horizontal lines. Bold and italic typefaces should not be used in tables. When it is necessary to do so, such use must be defined in a footnote. Limit the data field to the minimum needed for meaningful comparison within the accuracy of the methods. For each table, spell out the first use of abbreviations in parentheses or in numbered footnotes. Abbrevia-

Table 1. Effect of garlic oil, diallyl disulfide, allyl mercaptan, monensin, and lovastatin on a 17-h in vitro batch culture rumen microbial fermentation trial

Treatment
Item Control GAR300 DAD300 ALM300 MON LOV SEM
pH 6.6 6.7 6.7 6.6 6.6 6.6 0.01
Apparent disappearance of DM, % 61.0a 50.7b 51.2b 60.4a 53.9b 62.4a 1.11
Fiber digestibility
NDF, % 56.8a 44.3b 41.4b 55.9a 39.3b 60.0a 1.73
ADF, % 53.7a 36.8b 34.9b 52.5a 30.7b 57.0a 2.03
Gas, μmol 4,674.8a 3,756.9cd 3,359.7d 4,388.2ab 4,009.6bc 4,673.1a 123.34
CH₄, μmol 417.3a 110.1d 131.3d 335.9b 241.7c 396.3a 21.56
Total VFA, mM 49.3a 39.7c 38.8c 45.4b 45.7ab 48.4ab 1.17
Individual, mol/100 mol
Acetate 61.2a 54.3d 53.9d 58.3b 56.4c 61.1a 0.53
Propionate 22.6d 25.8c 28.3b 22.8d 34.2a 22.8d 0.78
Butyrate 12.5c 16.5a 14.0bc 15.0ab 6.6d 12.4c 0.60
Branched-chain VFA 2.0a 1.7b 1.7b 2.0a 1.4c 2.0a 0.10
C2:C3 2.7a 2.1b 1.9c 2.5a 1.6d 2.7a 0.07
CH₄ (μmol):VFA (μmol) 0.20a 0.05d 0.07cd 0.15ab 0.10bcd 0.17ab 0.00
N-NH₃, mg/100 mL 16.7ab 16.6bc 19.0a 17.2ab 14.4c 16.4bc 1.10
a–dMeans within a row with different superscripts differ ($P < 0.05$).
1Treatments: GAR300 = 300 mg/L *Allium sativa* (garlic oil); DAD300 = 300 mg/L diallyl disulfide; ALM300 = 300 mg/L allyl mercaptan; MON = 12.5 mg/L monensin; LOV = 5 mg/L lovastatin.
8 *Journal of Dairy Science* Instructions to Authors

Journal of Dairy Science 2013

tions should conform to journal style and be consistent with those used in the text. Avoid reference to other tables, figures, or text.

Footnotes to tables should be numerals. Each footnote should begin a new line (see sample table). For differences among means within a row or column, superscript letters should be used as appropriate sequentially (e.g., a, ab, b, c, cd) consistently from largest to smallest means. Probability may be indicated thus: † $P < 0.10$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Figures

To facilitate review, figures should be placed at the end of the manuscript (separated by section breaks). Each figure should be placed on a separate page, and identified by the last name of the first author and figure number. Figure captions should be typed (double spaced) on a separate page.

- **Figure size.** Prepare figures at final size for publication.

Figures should be prepared to fit one column (8.9 cm wide), 2 columns (14 cm wide), or full-page width (19 cm wide).

- **Font size.** Ensure that all type within the figure and axis labels are readable at final publication size. A minimum type size of 8 points (after reduction) should be used.

- **Fonts.** Use Helvetica, Times New Roman, Arial, and the symbols palette within those fonts only.

- **Line weight.** For line graphs, use a minimum stroke weight of 1 point for all lines. If multiple lines are to be distinguished, use solid, long-dash, shortdash, and dotted lines. Avoid the use of gray or shaded lines, as these will not reproduce well. Lines with different symbols for the data points may also be used to distinguish curves.

- **Axis labels.** Each axis should have a description and a unit. Units may be separated from the descriptor by a comma or parentheses.

- **Shading and fill patterns.** For bar charts, use different fill patterns if needed; e.g., black, white, gray, diagonal stripes. Avoid the use of multiple shades of gray, as they will not be easily distinguishable in print. Remove unnecessary backgrounds and gridlines from graphs.

- **Symbols.** Identify curves and data points using the following symbols only: o, n, s, d, m, ., n, ,, w, q, e, r, +, or ×. Symbols should be defined in the figure caption or in a key on the figure (but not both).

- **File formats.** Figures can be submitted in Word, PDF, EPS, TIFF, and JPEG formats.

- **Grayscale figures.** If figures are to be reproduced in grayscale (black and white), submit in grayscale. Often color will mask contrast problems that are apparent only when the figure is reproduced in grayscale.

- **Color figures.** If figures are to appear in color in the print journal, files must be submitted in CMYK color (not RGB).

- **Resolution.** Minimum resolution is 300 dpi for grayscale and color figures, and 600 dpi for line art.

- **Photomicrographs.** Photomicrographs must have their unmagnified size designated, either in the caption or with a scale bar on the figure. Reduction for publication can make a magnification power designation (e.g., 100×) inappropriate.

- **Captions.** The caption should provide sufficient information that the figure can be understood without excessive reference to the text. All author-derived abbreviations and symbols used in the figure should be defined in the caption.

- **General tips.** Avoid the use of three-dimensional bar charts, unless essential to the presentation of the data. Use the simplest shading scheme possible to present the data clearly. Ensure that data, symbols, axis labels, lines, and key are clear and easily readable at final publication size.

Color Charge. The cost to publish each color figure in the print journal is \$995; a surcharge for offprints will also be assessed. At the time of submission on Manuscript Central, authors will be asked to approve color charges for figures that they wish to have published

in color in the print journal. Color versions of figures will be included in the online PDF and full-text article at no charge.

Online-Only Data Supplements. Authors are now able to present material online that cannot physically be displayed in the print journal (e.g., Excel files, video),

or that might be cost-prohibitive (e.g., extra tables or large data sets), or that is too detailed for publication in the print issue. A note will appear in the print version

that more material can be found online. A small charge may be levied for preparing data supplements; contact journal headquarters (journals@assochoq.org) for more information. Material posted online only must go through the review process, and consequently should

be in an application or format easily accessible by most reviewers and readers.

Statistical Analysis

Biology should be emphasized, but the use of incorrect or inadequate statistical methods to analyze and interpret biological data is not acceptable. Consultation with a statistician is recommended. Statistical methods commonly used in the animal sciences need not be described in detail, but adequate references should be Journal of Dairy Science 2013

Journal of Dairy Science Instructions to Authors 9 provided. The statistical model, classes, blocks, and experimental unit must be designated. Any restrictions used in estimating parameters should be defined. Reference to a statistical package without reporting the sources of variation (classes) and other salient features

of the analysis, such as covariance or orthogonal

contrasts, is not sufficient. A statement of the results of statistical analysis should justify the interpretations and conclusions. When possible, results of similar experiments

should be pooled statistically. Do not report a number of similar experiments separately.

The experimental unit is the smallest unit to which an individual treatment is imposed. For group-fed animals,

the group of animals in the pen or the paddock is the experimental unit; therefore, groups must be replicated.

Repeated chemical analyses of the same sample usually do not constitute independent experimental units. Measurements on the same experimental unit over time also are not independent and must not be considered as independent experimental units. For analysis of time effects, use time-sequence analysis. Usual assumptions are that errors in the statistical models are normally and independently distributed with constant variance. Most standard methods are robust to deviations from these assumptions, but occasionally

data transformations or other techniques are helpful. Most statistical procedures are based on the assumption that experimental units have been assigned

to treatments at random. If animals are stratified by ancestry or weight or if some other initial measurement

should be accounted for, the model should include a blocking factor, or the initial measurement should be included as a covariate.

A parameter [mean (μ), variance (s^2)], which defines or describes a population, is estimated by a statistic (\bar{x} , s^2). The term *parameter* is not appropriate to describe a

variable, observation, trait, characteristic, or measurement taken in an experiment.

Standard designs are adequately described by name and size (e.g., "a randomized complete block design with

6 treatments in 5 blocks"). For a factorial set of treatments,

an adequate description might be as follows:

"Tryptophan at 0.05 or 0.10% of the diet and niacin at 5, 10, or 20 mg/kg of diet were used in a 2×3 factorial arrangement in 5 randomized complete blocks, each block consisting of littermates." Note that a factorial arrangement is not a design; the term "design" refers to the method of grouping experimental units into homogeneous

groups or blocks (i.e., the way in which the randomization is restricted).

Standard deviation refers to the variability in a sample or a population. The standard error (calculated from error variance) is the estimated sampling error of a statistic such as the sample mean. When a standard

deviation or standard error is given, the number of degrees

of freedom on which it rests should be specified.

When any statistical value (as mean or difference of 2 means) is mentioned, its standard error or confidence limit should be given. The fact that differences are not "statistically significant" is no reason for omitting standard errors. They are of value when results from several experiments are combined in the future. They also are useful to the reader as measures of efficiency of experimental techniques. A value attached by " \pm " to a number implies that the second value is its standard error (not its standard deviation). Adequate reporting may require only 1) the number of observations, 2) arithmetic treatment means, and 3) an estimate of experimental error. The pooled standard error of the mean is the preferred estimate of experimental error. Standard errors need not be presented separately for each mean unless the means are based on different numbers of observations or the heterogeneity of the error

variance is to be emphasized. Presenting individual standard errors clutters the presentation and can mislead readers.

For more complex experiments, tables of subclass means and tables of analyses of variance or covariance may be included. When the analysis of variance contains

several error terms, such as in split-plot and repeated measures designs, the text should indicate clearly which mean square was used for the denominator of each F statistic. Unbalanced factorial data can present special problems. Accordingly, it is well to state how the computing was done and how the parameters were estimated. Approximations should be accompanied by cautions concerning possible biases.

Contrasts (preferably orthogonal) are used to answer specific questions for which the experiment was designed;

they should form the basis for comparing treatment means. Nonorthogonal contrasts may be evaluated by Bonferroni t statistics. The exact contrasts tested should be described for the reader. Multiple-range tests are not appropriate when treatments are orthogonally arranged. Fixed-range, pairwise, multiple comparison tests should be used only to compare means of treatments

that are unstructured or not related. In factorial treatment arrangements, means for main effects should be presented when important interactions are not present. Means for individual treatment combinations

also should be provided in table or text so that future researchers may combine data from several experiments

to detect important interactions. An interaction may not be detected in a given experiment because of a limitation in the number of observations.

The terms *significant* and *highly significant* traditionally

have been reserved for $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively;

however, reporting the P -value is preferred to the 10 *Journal of Dairy Science* Instructions to Authors *Journal of Dairy Science* 2013

use of these terms. For example, use “. . . we observed a difference ($P < 0.05$) between control and treated samples” rather than “. . . we observed a significant ($P < 0.05$) difference between control and treated samples.”

When available, the observed significance level (e.g., $P = 0.03$) should be presented rather than merely $P < 0.05$ or

$P < 0.01$, thereby allowing the reader to decide what to reject. Other probability (α) levels may be discussed

if properly qualified so that the reader is not misled.

Do not report P -values to more than 3 places after the decimal (2 significant digits are usually sufficient).

Regardless

of the probability level used, failure to reject a hypothesis should be based on the relative consequences

of Type I and II errors. A “nonsignificant” relationship should not be interpreted to suggest the absence of a relationship. An inadequate number of experimental units or insufficient control of variation limits the power

to detect relationships. Avoid the ambiguous use of $P > 0.05$ to declare nonsignificance, such as indicating that a

difference is not significant at $P > 0.05$ and subsequently

declaring another difference significant (or a tendency)

at $P < 0.09$. In addition, readers may incorrectly interpret

the use of $P > 0.05$ as the probability of a beta error, not an alpha error.

Present only meaningful digits. A practical rule is to round values so that the change caused by rounding is less than one-tenth of the standard error. Such rounding increases the variance of the reported value by less than 1%, so that less than 1% of the relevant information contained in the data is sacrificed. In most cases, 2 or 3 significant digits (not decimal places) are sufficient.

Sensory Data

Sensory data should comply with the “Statement of Policy in the Report of the Committee on Sensory Data to the Journal Management Committee of the American

Dairy Science Association, 1986,” *Journal of Dairy Science* 69:298.

Nomenclature

Genes and Proteins. The journal recommends using internationally accepted symbols for genes and proteins; such symbols may be used without definition. Symbols for specific genes and proteins can be obtained

by querying the gene database of PubMed ([http://www.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed)

[ncbi.nlm.nih.gov/pubmed](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed)). Nomenclature rules for humans,

nonhuman primates, and livestock are available at <http://www.genenames.org>, and rules for mice and rats are at <http://www.informatics.jax.org/mgihome/nomen/strains.shtml>. Gene symbols should be shown in italics (e.g., *SERPINA14*) and proteins in roman text (e.g., SERPINA14). Gene symbols are generally shown in all uppercase letters (e.g., *LHB*), except in mice and rats, where only the first letter is capitalized (e.g., *Lhb*)

Single Nucleotide Polymorphisms. The increasing number of SNP association studies and the improvements in bovine genome annotation require a

standardized SNP nomenclature for unequivocal and correct SNP identification. Additionally, information regarding the SNP investigated should be easily accessible

in a publicly available database. Therefore, all relevant SNP included in a study should be listed with their unique RefSNP (rs) or submitted SNP (ss) number

(if rs number is not yet available) as indicated in the public domain NCBI dbSNP database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>). If the SNP investigated do not yet have an entry in the NCBI dbSNP database, the authors of the manuscript are responsible for submitting

all the required information to NCBI (see <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>) for depositing the SNP into the database and obtaining a unique ss number for the SNP. In the text of the manuscript, use the rs/ss number of the SNP or an alternative standardized

nomenclature.

Microorganisms. All microorganisms must be named by genus and species. The name of the genus must appear in full the first time that the microorganism

is cited in the abstract, in the body of the paper, and in each table and figure legend. Thereafter, the genus can be abbreviated by its first initial unless it will be confused with other microorganisms cited in the

paper, in which case each genus should be abbreviated to use enough letters to avoid confusion (e.g., *Strep.* vs. *Staph.*). The formal, binomial names of all microorganisms

should be in italics. Specific strain designations and numbers should be used when appropriate. Authorities are not required.

For microorganisms that are genetic variants of a parent strain, the genotypic and phenotypic properties should be cited according to the procedures described by Demerec et al. (1966) in *Genetics* 54:61–76. Phenotypes should be identified by 3 letters; the first is capitalized. Genotypes should be identified by 3 lowercase italic letters. Superscript plus (+) signs are used to refer to a wild-type. The serial isolation number is placed after the locus symbol for mutations.

The delta symbol is used to indicate deletions. Nomenclature for bacterial plasmids should be cited according to Novick et al. (1976) in *Bacteriological Reviews* 40:168–189.

Enzymes. Mention of an enzyme should include the EC number.

Journal of Dairy Science 2013

Journal of Dairy Science Instructions to Authors 11
In Vitro Antimicrobial Susceptibility Tests

Please refer to the JDS policy in Appendix 4 of this document.

Miscellaneous Usage Notes

Abbreviations. Abbreviations should not be used in the title, key words, or to begin sentences, except when they are widely known throughout science (e.g., DNA, RNA) or are terms better known by their abbreviation (e.g., IgG, CD). Abbreviations may be used in heads within the paper if they have been first defined within the text. The inside front cover of every issue of the journal lists abbreviations that can be used without definition. The list is subject to revision at any time, so authors should always consult the most recent issue of the journal (or the updated list at <http://www.journalofdairyscience.org>) for relevant information.

Abbreviations are allowed when they help the flow of the manuscript; however, excessive use of abbreviations

can confuse the reader. The suitability of abbreviations will be evaluated by the reviewers and editors during the review process and by the technical editor during editing. As a rule, author-derived abbreviations should be in all capital letters. Terms used fewer than 3 times after first use must be spelled out in full rather than abbreviated. Do not use capitalized whole words (e.g., CORN) as abbreviations, or single-letter abbreviations that could be confused with chemical elements (e.g., P, C, S). All terms are to be spelled out in full with the abbreviation

following in bold type in parentheses the first time they are mentioned in the main body of the text.

Abbreviations shall be used consistently thereafter. The abstract, text, each table, and each figure must be understood independently of each other. Therefore, abbreviations shall be defined within each of these units of the manuscript.

Plural abbreviations do not require “s.” Chemical symbols and 1-letter and 3-letter abbreviations for amino acids do not need definition. Bacterial genus names are abbreviated according to the guidelines recommended in *Scientific Style and Format* (7th ed.), and the abbreviated form should not be shown in bold at first use. Units of measure, except those in the standard JDS abbreviation list, should be abbreviated according to standard SI usage and do not need to be defined. See Appendix 2 for a list of commonly used terms.

International Words and Phrases. Non-English words in common usage (i.e., given in recent editions of standard dictionaries) will not appear in italics (e.g., in vitro, in vivo, ad libitum, in situ, a priori). However, genus and species of plants, animals, or bacteria and

viruses should be italicized. Authors must indicate accent marks and other diacriticals on international names and institutions. German nouns shall begin with capital letters.

Capitalization. Breed and variety names are to be capitalized (e.g., Holstein, Danish Red). Trademarked or registered names should be capitalized, but no TM or ® symbols should be used. Proper nouns should be capitalized.

Numbers and Units. The *Journal of Dairy Science* uses the Council of Science Editors’ number style given in the seventh edition of *Scientific Style and Format*.

Numbers less than 1 shall be written with preceding zeros (e.g., 0.75). All numbers shall be written as digits;

a comma separator must be used in numbers greater than 999. Measures must be in the metric (SI) system; however, US equivalents may be given in parentheses. Units of measure not associated with a numeric value must be written out rather than abbreviated (e.g., lysine content was measured in milligrams per kilogram of diet) unless used parenthetically. Measures of variation

must be defined in the Abstract and in the body of the paper at first use.

General Usage. Note that “and/or” is not permitted; choose the more appropriate meaning or use “x or y or both.”

Use the slant line only when it means “per” with numbered units of measure or “divided by” in equations.

Use only one slant line in a given expression: e.g., g/cow per day. The slant line may not be used to indicate ratios or mixtures.

Use “to” instead of a hyphen to indicate a range of values in text; an en-dash may be used to indicate a range in parenthetical text or tables.

Insert spaces around all signs (except slant lines) of operation (=, −, +, ×, >, or <) when these signs occur between 2 items.

Items in a series should be separated by commas:

e.g., a, b, and c.

Restrict the use of “while” and “since” to meanings related to time. Appropriate substitutes include “and,” “but,” or “whereas” for “while” and “because” or “although” for “since.”

Commercial Products. The use of names of commercial

products should be minimized. When a commercial product is being tested as part of the experiment, the manufacturer and location should be given parenthetically at first mention in text, tables, and figures, but, when possible, the generic name should be used thereafter. Only generic names should be used in article titles. Trademark symbols and registration marks should not be used and will be removed.

Avoid describing a method as “per manufacturer’s instructions.” If the product goes out of production, the 12 *Journal of Dairy Science* Instructions to Authors

Journal of Dairy Science 2013 method will be lost to readers. Many products come with literature references; try to use references that can be found by other researchers to describe a method being used.

Supplemental Information

The following information is available online and updated regularly. Please refer to these pages when preparing a manuscript for submission.

Journal Title Abbreviations. A list of standard abbreviations for common journal titles and words used in citations is available in Appendix 3.

SI Units. The following site (National Institute of Standards and Technology) provides a comprehensive guide to SI units and usage: <http://physics.nist.gov/cuu/Units/index.html>.

Figure and Table Preparation Guidelines. Current information on figure and table preparation can be found at <http://www.journalofdairyscience.org/>.

Manuscript Central Instructions. Manuscripts are submitted at <http://mc.manuscriptcentral.com/jds>. Full user instructions for using the Manuscript Central system are available at <http://mc.manuscriptcentral.com/jds/index.html?mode=instruction>.

*Use generally restricted to tables and parenthetical expressions.

Appendix 1

ABBREVIATIONS

Revised January 2012

The following abbreviations may be used without definition in the *Journal of Dairy Science*. In addition, abbreviations of all chemical elements, common combinations

of chemical elements, SI units of measure used with a value, and common amino acids (3-letter and 1-letter abbreviations) should be used without definition. Abbreviations

are generally not permitted in the title, running head, and key words. Plural abbreviations do not require "s".

Use

AA = amino acid
 ACTH = adrenocorticotropin
 AMP = adenosine monophosphate
 ANOVA = analysis of variance
 ATP = adenosine triphosphate
 ATPase = adenosine triphosphatase
 BLUP = best linear unbiased predictor
 BSA = bovine serum albumin
 cDNA = complementary deoxyribonucleic acid
 cRNA = complementary ribonucleic acid
 DEAE = diethyl amino ethyl
 DNA = deoxyribonucleic acid
 DNase = deoxyribonuclease
 EDTA = ethylenediaminetetraacetate
 ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay
 FSH = follicle-stimulating hormone
 GAPDH = glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase
 GnRH = gonadotropin-releasing hormone
 HEPES = *N*-2-hydroxyethyl piperazine-*N'*-ethanesulfonic acid

HPLC = high performance (pressure) liquid chromatography

IFN = interferon

Ig = immunoglobulin

IL = interleukin

LH = luteinizing hormone

mAb = monoclonal antibody

mRNA = messenger ribonucleic acid

NAD = nicotinamide adenine dinucleotide

NADP = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

NADPH₂ = reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

PAGE = polyacrylamide gel electrophoresis

PCR = polymerase chain reaction

PGF₂ α = prostaglandin F₂ α

REML = restricted maximum likelihood

RFLP = restriction fragment length polymorphism

RIA = radioimmunoassay

RNA = ribonucleic acid

RNase = ribonuclease

rRNA = ribosomal ribonucleic acid

Tris = tris(hydroxymethyl)aminomethane

UHT = ultra-high temperature

UV = ultraviolet

Define in Abstract; Unrestricted Use Elsewhere

ADF = acid detergent fiber

ADG = average daily gain

ADL = acid detergent lignin

ADIN = acid detergent insoluble nitrogen

ADP = adenosine diphosphate

AI = artificial insemination

BCS = body condition score

BHBA = β -hydroxybutyrate

bST = bovine somatotropin

BTA = *Bos taurus* autosome

BUN = blood urea nitrogen

BW = body weight

CI = confidence interval*

CN = casein

CNS = coagulase-negative staphylococci

CoA = coenzyme A

CP = crude protein

CV = coefficient(s) of variation*

DCAD = dietary cation-anion difference

df = degrees of freedom*

DHI(A) = Dairy Herd Improvement (Association)

DIM = days in milk

DM = dry matter

DMI = dry matter intake

EBV = estimated breeding value

ECM = energy-corrected milk

ETA = estimated transmitting ability

FA = fatty acid

FCM = fat-corrected milk

FFA = free fatty acids

GC-MS = gas chromatography-mass spectrometry

GLC = gas-liquid chromatography

h² = heritability*

HTST = high temperature, short time

IGF = insulin-like growth factor

IMI = intramammary infection

LA = lactalbumin
 LG = lactoglobulin
 LPS = lipopolysaccharide
 LSD = least significant difference*
 LSM = least squares means*
 ME = metabolizable energy
 MIC = minimum inhibitory concentration
 MP = metabolizable protein
 MS = mean square*
 MUFA = monounsaturated fatty acids
 MUN = milk urea nitrogen
 n = number of samples*
 NAN = nonammonia nitrogen
 NDF = neutral detergent fiber
 NDIN = neutral detergent insoluble N
 NDM = nonfat dry milk
 NEFA = nonesterified fatty acids
 NEG = net energy for gain
 NEL = net energy for lactation
 NEM = net energy for maintenance
 NFC = nonfiber carbohydrates
 NPN = nonprotein nitrogen
 NRC = National Research Council
 NS = nonsignificant*
 NSC = nonstructural carbohydrates
 OM = organic matter
 PBS = phosphate-buffered saline
 PMNL = polymorphonuclear neutrophilic leukocyte
 PTA = predicted transmitting ability
 PUFA = polyunsaturated fatty acids
 r = correlation coefficient*
 R² = coefficient of determination*
 QTL = quantitative trait loci
 RDP = rumen-degradable protein
 RUP = rumen-undegradable protein
 SARA = subacute ruminal acidosis
 SCC = somatic cell count
 SCM = solids-corrected milk
 SCS = somatic cell score
 SD = standard deviation*
 SDS = sodium dodecyl sulfate
 SE = standard error*
 SEM = standard error of the mean*
 SFA = saturated fatty acids
 SNF = solids-not-fat
 SNP = single nucleotide polymorphism
 SPC = standard plate count
 SS = sums of squares*
 TCA = trichloroacetic acid
 TDN = total digestible nutrients
 TMR = total mixed ration(s)
 TS = total solids
 UF = ultrafiltration, ultrafiltered
 VFA = volatile fatty acids

Appendix 2

Selected Units and Terms

The following abbreviations and terms can be used without definition in the *Journal of Dairy Science*.
 afternoon p.m.
 atomic mass unit amu

atmosphere atm
 base pair bp
 calorie (gram) cal
 celsius (with number) °C
 centimeter cm
 centimeter, square cm²
 circa ca.
 centimorgan cM
 centipoise cP
 central processing unit CPU
 colony-forming unit cfu
 counts per minute cpm
 counts per second cps
 crossed with, times ×
 cubic cu
 cubic centimeter cc, cm³
 cubic millimeter mm³
 curie Ci
 cycles per second (hertz) Hz
 day(s) d
 dalton Da
 deci d (prefix)
 deciliter dL
 equivalents Eq
 foot-candle use lx
 gram g
 gravity g
 hectare ha
 hour(s) h
 inside diameter i.d.
 international unit IU
 intramuscularly i.m.
 intraperitoneally i.p.
 intravenously i.v.
 joule J
 kilo k (prefix)
 kilobase kb
 kilobyte KB
 kilocalorie kcal
 kilogram kg
 Klett units KU
 kiloelectron volts keV
 kilopascal kPa
 liter L
 logarithm (natural) ln
 logarithm (base 10) log₁₀
 lux lx
 mega M (prefix)
 meter m
 metric tonne tonne/t
 micro μ (prefix)
 microcurie μCi
 micro-einstein μE
 microfarads μF
 microgram μg
 microliter μL
 milli m (prefix)
 milliliter mL
 millimeters of mercury mm Hg
 millimolar (concentration) mM
 millimole (mass) mmol

minute(s) min
 molar (concentration) *M*
 molar (mass) mol
 mole (number, mass) mol
 month(s) mo
 morning a.m.
 nano n (prefix)
 newton N
 normal (concentration) *N*
 nanogram ng
 osmolality use mmol/kg
 outside diameter o.d.
 parts per billion µg/kg
 parts per million mg/kg
 pascal Pa
 pico p (prefix)
 picogram pg
 plaque-forming unit pfu
 probability *P*
 rennet activity unit RU
 revolutions per minute rpm
 second(s) s
 siemens S
 species spp.
 subcutaneous s.c.
 subspecies ssp.
 unit U
 volt V
 volume vol
 volume/volume vol/vol (use parenthetically)
 watt W
 week(s) wk
 weight/volume wt/vol (use parenthetically)
 year(s) yr
Amino Acids
 alanine Ala
 arginine Arg
 asparagine Asn
 aspartic acid Asp
 citrulline Cit
 cysteine Cys
 glutamic acid Glu
 glutamine Gln
 glycine Gly
 histidine His
 isoleucine Ile
 leucine Leu
 lysine Lys
 methionine Met
 ornithine Orn
 phenylalanine Phe
 proline Pro
 serine Ser
 threonine Thr
 tryptophan Trp
 tyrosine Tyr
 valine Val

Appendix 3

Abbreviations of Frequently Cited Journals

Acta Agric. Scand. A Anim. Sci.

Acta Endocrinol.
 Acta Theriol.
 Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. (since 1968)
 Adv. Exp. Med. Biol.
 Adv. Genet.
 Adv. Protein Chem.
 Adv. Vet. Sci. Comp. Med. (since 1969)
 Agric. Biol. Chem.
 Am. J. Anat.
 Am. J. Clin. Nutr.
 Am. J. Clin. Pathol.
 Am. J. Obstet. Gynecol.
 Am. J. Ophthalmol.
 Am. J. Pathol.
 Am. J. Physiol.
 Am. J. Vet. Res.
 Anal. Biochem.
 Anal. Chem.
 Anat. Rec.
 Anim. Behav.
 Anim. Breed. Abstr.
 Anim. Feed Sci. Technol.
 Anim. Prod.
 Anim. Reprod. Sci.
 Ann. Biol.
 Anim. Biochim. Biophys.
 Ann. New York Acad. Sci.
 Ann. Rech. Vet.
 Ann. Zootech. (Paris)
 Annu. Rev. Biochem.
 Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. Antibiot. Chemother.
 Appl. Anim. Ethol.
 Appl. Environ. Microbiol. (since 1976)
 Arch. Biochem. Biophys.
 Arch. Gefluegelkd.
 Arch. Tierernahr.
 Arch. Tierz.
 Asian-australas. J. Anim. Sci.
 Aust. J. Agric. Res.
 Aust. J. Biol. Sci.
 Aust. J. Dairy Technol.
 Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.
 Aust. Vet. J.
 Bacteriol. Rev.
 Behav. Processes
 Biochemistry
 Biochem. J.
 Biochem. Biophys. Res. Commun.
 Biochimie
 Biochim. Biophys. Acta
 Biol. Reprod.
 Biol. Technol.
 Biometrics
 Bioscience
 Bio/Technology (New York)
 Biotechnol. Bioeng. Biotechnol. Lett.
 Br. J. Nutr.
 Br. Vet. J.
 Cancer Res.
 Can. Inst. Food Sci. Technol. J.
 Can. J. Anim. Sci.

- Can. J. Comp. Med.
 Can. J. Genet. Cytol.
 Can. J. Physiol. Pharmacol.
 Can. J. Zool.
 Can. Med. Assoc. J.
 Carbohydr. Res.
 Cell. Tissue Res.
 Cheese Rep.
 Chem. Ind. (Lond.)
 Clin. Chem.
 Clin. Chim. Acta
 Clin. Endocrinol.
 Clin. Toxicol. Comp. Biochem. Physiol. (now in series:
 (A Comp. Physiol., B Comp. Biochem., C Comp.
 Pharmacol., or C Comp. Pharmacol. Toxicol.)
 Compend. Contin. Educ. Proc. Vet.
 Cornell Vet.
 CRC Crit. Rev. Biochem.
 Cult. Dairy Prod. J.
 Curr. Opin. Biotechnol. Dairy Field
 Dairy Ind. Int.
 Dairy Sci. Abstr.
 Dev. Biol.
 DNA Cell Biol. (since 1989)
 DNA (New York); changed in 1989 to DNA Cell Biol.
 Domest. Anim. Endocrinol.
 Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.; continued in 1972 by
 DTW Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.
 Electrophoresis
 Endocrinology
 Eur. J. Biochem.
 FASEB J.
 FEBS Lett.
 Fed. Proc. (now FASEB J.)
 FEMS Microbiol. Immunol.
 Fertil. Steril.
 Food Eng. (New York)
 Food Res.
 Food Technol.
 Gastroenterology
 Gen. Comp. Endocrinol.
 Gene (Amst.)
 Genet. Sel. Evol.
 Genetics
 Horm. Behav.
 Immunol. Today
 Indian J. Dairy Sci.
 Infect. Immunol.
 Int. Dairy J.
 Int. J. Food Microbiol.
 Jpn. Agric. Res. Q.
 J. Agric. Food Chem.
 J. Agric. Sci. [(Camb.) if published in England
 (before 1991)]
 J. Am. Oil Chem. Soc.
 J. Am. Vet. Med. Assoc.
 J. Anim. Sci.
 J. Appl. Physiol.
 J. AOAC; continued in 1992 by J. AOAC Int.
 J. Bacteriol.
 J. Biol. Chem.
 J. Br. Grassl. Soc.
 J. Cell Biol.
 J. Cell Physiol.
 J. Chromatogr.; continued in 1994 by J. Chromatogr.
 A and B
 J. Clin. Endocrinol. Metab.
 J. Clin. Invest.
 J. Clin. Pathol. (Lond.)
 J. Comp. Pathol.
 J. Cult. Dairy Prod.
 J. Dairy Res.
 J. Dairy Sci.
 J. Endocrinol.
 J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.
 J. Exp. Anal. Behav.
 J. Exp. Biol.
 J. Exp. Med.
 J. Food Sci.
 J. Food Prot.
 J. Gen. Microbiol.
 J. Gen. Physiol.
 J. Hered.
 J. Immunol.
 J. Immunol. Methods
 J. Infect. Dis.
 J. Lab. Clin. Med.
 J. Leukocyte Biol.
 J. Lipid Res.
 J. Mol. Biol.
 J. Morphol.
 J. Nutr.
 J. Pharmacol. Exp. Ther.
 J. Physiol. (Lond.) [or (Paris)]
 J. Range Manage.
 J. Reprod. Fertil.
 J. Sci. Food Agric.
 J. Soc. Dairy Technol.
 J. Texture Stud.
 J. Toxicol. Environ. Health
 J. Ultrastruct. Res.
 J. Ultrastruct. Mol. Struct. Res.
 J. Vet. Med. Ser. A or B
 J. Vet. Res. J. Zool. (Lond.)
 Jpn. J. Zootech. Sci.
 Lab. Anim.
 Lait
 Lebenson. Wiss. Technol.
 Lipids
 Livest. Prod. Sci.; continued in 2006 by Livest. Sci.
 Milchwissenschaft
 Mol. Cell. Endocrinol.
 Mol. Gen. Genet. Nature (Lond.)
 Neuroendocrinology
 New Engl. J. Med.
 Neth. J. Agric. Sci.
 Neth. Milk Dairy J.
 Nutr. Res.
 Rev. N.Z. J. Dairy Sci. Technol.
 Obstet. Gynecol.
 Onderstepoort J. Vet. Res.
 Pharmacol. Rev.

Physiol. Rev.
 Physiol. Zool.
 Poult. Sci.
 Proc. Natl. Acad. Sci. USA
 Proc. Soc. Exp. Biol. Med.
 Process Biochem.
 Protein Expr. Purif.
 Recent Prog. Lipid Res.
 Reprod. Fertil. Dev.
 Res. Vet. Sci.
 Science
 Sci. Tecn. Latt. Cas.
 Theor. Appl. Genet.
 Theriogenology
 Toxicol. Appl. Pharmacol.
 Transgenic Res.
 Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.
 Vet. Immunol. Immunopathol.
 Vet. Rec.
 Vet. Res. Commun.
 Z. Tierz. Zuchtungsbiol.; continued in 1985 by
 J. Anim. Breed. Genet.
 Zentralbl. Veterinarmed. A, B, or C; continued in 2000
 by J. Vet. Med. Ser. A or B
 Z. Lebensm. Unters. Forsch.

Appendix 4

Journal of Dairy Science Policy on In Vitro Antimicrobial Susceptibility Tests

Authors should avoid the use of the term “antibiotic” when referring to a specific agent unless that agent is naturally occurring and unmodified (e.g., penicillin). The broader term “antimicrobial agent” is preferred because

it includes naturally produced agents, semisynthetic agents, and totally synthetic agents. The term “susceptibility” should be used instead of “sensitivity.” Authors unfamiliar with antimicrobial susceptibility testing should obtain CLSI (formerly NCCLS) document

M31 (Clinical Laboratory Standards Institute, 940 W. Valley Rd., Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898)

for specific information regarding antimicrobial susceptibility

testing of veterinary pathogens. CLSI or NCCLS equivalent methods for antimicrobial susceptibility

testing available outside the US are also acceptable.

A list of these methods is available at http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/a_00021.htm.

Two methods are generally used to generate antimicrobial

susceptibility data: the agar disk diffusion (ADD) method and the minimum inhibitory concentration

(MIC) method. The use of the term “Kirby-Bauer” to refer to the ADD method is incorrect and should be avoided. The correct citation for this method is the “disk

diffusion method of Bauer et al.” The ADD method is

a qualitative method and results should be reported as susceptible, intermediate, or resistant (**SIR**). If zone of inhibition diameters are reported, these should be reported in millimeters.

The MIC method is quantitative and results should be reported in micrograms per milliliter ($\mu\text{g/mL}$).

The minimum summary statistics for reporting MIC results from multiple strains of an organism are the MIC₅₀, the MIC₉₀, and the range. The MIC₅₀ and MIC₉₀

represent the concentrations required to inhibit 50 and 90% of the strains, respectively. The MIC₅₀ and MIC₉₀

reported should be the actual concentrations tested, not values calculated from the actual data obtained. When <10 isolates of a species are tested, tabulate only the MIC range of each antimicrobial agent tested. If more than a single drug is studied, insert a column labeled “test agent” between the columns listing the organisms and the columns containing the numerical data, and record data for each agent in the same isolate order. In addition, the percentage of strains categorized as susceptible, intermediate, or resistant may be reported.

If only one of these categories is to be reported, the percent susceptible value is preferred. The percentage of resistant isolates is to be reported for an agent, it should include isolates categorized as intermediate.

The percentage of strains susceptible or resistant to an antibiotic at its breakpoint concentration may be given only if an appropriate breakpoint has been approved, as by CLSI. Given the paucity of approved breakpoints for mastitis pathogens, authors may use breakpoints from other species (e.g., human breakpoints

for ampicillin or canine breakpoints for enrofloxacin).

However, authors must clearly state that the breakpoints are not approved for mastitis pathogens. Moreover, authors cannot assign breakpoints or use breakpoints from related antibiotics (except for class testing purposes) or breakpoints developed for other methods.

Authors must indicate that the appropriate quality control tests were performed. Information regarding the frequency of testing and the specific strains tested should be provided. The frequency of quality control testing and organisms tested should conform to the recommendations

in the CLSI standard (document M31)

or equivalent. A single statement in the manuscript indicating that the results obtained for the quality control

documents were within published ranges is acceptable.

However, authors may be requested to provide the quality control information during the manuscript review cycle.

ANEXO 2

SEMINA Ciências Agrárias – Normas editoriais para publicação

Normas editoriais para publicação na Semina: Ciências Agrárias, UEL.

A partir de 01 de abril de 2014, os artigos poderão ser submetidos em português ou inglês, mas somente serão publicados em inglês. Os artigos submetidos em português, após o aceite, deverão ser obrigatoriamente **traduzidos para o inglês**.

Os artigos enviados para a revista até esta data e que estão em tramitação poderão ser publicados em português, entretanto, se traduzidos para o inglês terão prioridade na publicação.

Todos os artigos, após o aceite deverão estar acompanhados (como documento suplementar) do comprovante de tradução ou correção de um dos seguintes tradutores:

American Journal Experts

Editage

Elsevier

<http://www.proof-reading-service.com>

<http://www.academic-editing-services.com/>

<http://www.publicase.com.br/formulario.asp>

O autor principal deverá anexar no sistema o **documento comprobatório** dessa correção na página de submissão em "**Docs. Sup.**"

OBSERVAÇÕES:

1) Os manuscritos originais submetidos à avaliação são inicialmente apreciados pelo Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias. Nessa análise, são avaliados os requisitos de qualidade para publicação na revista, como: escopo; adequação às normas da revista; qualidade da redação; fundamentação teórica; atualização da revisão da literatura; coerência e precisão da metodologia; contribuição dos resultados; discussão dos dados observados; apresentação das tabelas e figuras; originalidade e consistência das conclusões. Se o número de trabalhos com manuscrito ultrapassar a capacidade de análise e de publicação da Semina: Ciências Agrárias é feita uma comparação entre as submissões, e são encaminhados para assessoria Ad hoc, os trabalhos considerados com maior potencial de contribuição para o avanço do conhecimento científico. Os trabalhos não aprovados nesses critérios são arquivados e os demais são submetidos a análise de pelo menos dois assessores científicos, especialistas da área técnica do artigo, sem a identificação do(s) autor(es). Os autores cujos artigos forem arquivados, não terão direito à devolução da taxa de submissão.

2) Quando for o caso, deve ser informado que o projeto de pesquisa que originou o artigo foi executado obedecendo às normas técnicas de biosegurança e ética sob a aprovação da comissão de ética envolvendo seres humanos e/ou comissão de ética no uso de animais (nome da Comissão, Instituição e nº do Processo).

NÃO SERÃO ACEITOS MANUSCRITOS EM QUE:

- a) O arquivo do artigo anexado do trabalho contenha os nomes dos autores e respectiva afiliação;
- b) Não tenha sido realizado o **cadastro completo** de todos os autores nos metadados de submissão;
- c) Não tenha sido incluído no campo COMENTÁRIOS PARA O EDITOR, um texto que aponte a relevância do trabalho (importância e diferencial em relação a trabalhos já existentes), em até 10 linhas;
- d) Não estejam acompanhados de documento comprobatório da taxa de submissão, em documento suplementar "**Docs. Sup.**" no ato da submissão;

e) Não estejam acompanhados dos seguintes documentos suplementares: gráficos, figuras, tabelas, fotos e outros, EM VERSÃO ORIGINAL.

RESTRICÇÃO POR ÁREA:

PARA A ÁREA DE AGRONOMIA NÃO SERÃO ACEITOS MANUSCRITOS EM QUE:

- a) Os experimentos com cultura in vitro sejam limitados ao melhoramento dos protocolos já padronizados ou que não forneçam novas informações na área;
- b) Os experimentos de campo não incluam dados de pelo menos dois anos ou de várias localidades dentro do mesmo ano;
- c) Os experimentos se refiram apenas a testes sobre a eficiência de produtos comerciais contra agentes bióticos, abióticos ou estresses fisiológicos;
- d) Envolvam apenas bioensaios (screening) de eficácia de métodos de controle de insetos, ácaros ou doenças de plantas, exceto se contiverem contribuição importante sobre mecanismos de ação numa perspectiva de fronteira do conhecimento;
- e) O objetivo seja limitado a registrar a ocorrência de espécies de pragas ou patógenos ou associações entre hospedeiros em novas localidades dentro de regiões geográficas onde eles já sejam conhecidos. Registros de espécies ou associações conhecidas só serão considerados em novas zonas ecológicas. Os registros de distribuição devem se basear em ecossistemas, e não em fronteiras políticas.

PARA A ÁREA DE VETERINÁRIA

a) A publicação de relatos de casos é restrita e somente serão selecionados para tramitação àqueles de grande relevância ou ineditismo, com real contribuição ao avanço do conhecimento para a área relacionada.

Categorias dos Trabalhos

- a) Artigos científicos: no máximo 20 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas;
- b) Comunicações científicas: no máximo 12 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 16 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- b) Relatos de casos: No máximo 10 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 12 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- c) Artigos de revisão: no máximo 25 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas.

Apresentação dos Trabalhos

Os originais completos dos artigos, comunicações, relatos de casos e revisões podem ser escritos em português ou inglês no editor de texto Word for Windows, em papel A4, com numeração de linhas por página, espaçamento 1,5, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, com margens esquerda e direita de 2 cm e superior e inferior de 2 cm, respeitando-se o número de páginas, devidamente numeradas no canto superior direito, de acordo com a categoria do trabalho.

Figuras (desenhos, gráficos e fotografias) e Tabelas serão numeradas em algarismos arábicos e devem ser incluídas no final do trabalho, imediatamente após as referências bibliográficas, com suas respectivas chamadas no texto. Além disso, as figuras devem apresentar boa qualidade e deverão ser anexadas nos seus formatos originais (JPEG, TIF, etc) em "Docs Supl." na página de submissão. Não serão aceitas

figuras e tabelas fora das seguintes especificações: Figuras e tabelas deverão ser apresentadas nas larguras de 8 ou 16 cm com altura máxima de 22 cm, lembrando que se houver a necessidade de dimensões maiores, no processo de editoração haverá redução para as referidas dimensões.

Observação: Para as tabelas e figuras em qualquer que seja a ilustração, o título deve figurar na parte superior da mesma, seguida de seu número de ordem de ocorrência em algarismo arábico, ponto e o respectivo título.

Indicar a fonte consultada abaixo da tabela ou figura (elemento obrigatório). Utilizar fonte menor (Times New Roman 10).

Citar a autoria da fonte somente quando as tabelas ou figuras não forem do autor.

Ex: **Fonte:** IBGE (2014), ou **Source:** IBGE (2014).

Preparação dos manuscritos

Artigo científico:

Deve relatar resultados de pesquisa original das áreas afins, com a seguinte organização dos tópicos: Título; Título em inglês; Resumo com Palavras-chave (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Abstract com Key words (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Introdução; Material e Métodos; Resultados e Discussão com as conclusões no final da discussão ou Resultados; Discussão e Conclusões separadamente; Agradecimentos; Fornecedores, quando houver e Referências Bibliográficas. Os tópicos devem ser destacados em negrito, sem numeração, quando houver a necessidade de subitens dentro dos tópicos, os mesmos devem ser destacados em itálico e se houver dentro do subitem mais divisões, essas devem receber números arábicos. (Ex. **Material e Métodos...** *Áreas de estudo...1. Área rural...2. Área urbana*).

O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outra revista com o mesmo conteúdo, exceto na forma de resumo em Eventos Científicos, Nota Prévia ou Formato Reduzido.

A apresentação do trabalho deve obedecer à seguinte ordem:

1. Título do trabalho, acompanhado de sua tradução para o inglês.

2. Resumo e Palavras-chave: Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 200 e um máximo de 400 palavras, na mesma língua que o artigo foi escrito, acompanhado de sua tradução para o inglês (*Abstract e Key words*).

3. Introdução: Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.

4. Material e Métodos: Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.

5. Resultados e Discussão: Devem ser apresentados de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados e pontos de vistas discutidos. Opcionalmente, as conclusões podem estar no final da discussão.

6. Conclusões: Devem ser claras e de acordo com os objetivos propostos no trabalho.

7. Agradecimentos: As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.

Observações:

Notas: Notas referentes ao corpo do artigo devem ser indicadas com um símbolo sobrescrito, imediatamente depois da frase a que diz respeito, como notas de rodapé no final da página.

Figuras: Quando indispensáveis figuras poderão ser aceitas e deverão ser assinaladas no texto pelo seu número de ordem em algarismos arábicos. Se as ilustrações enviadas já foram publicadas, mencionar a fonte e a permissão para reprodução.

Tabelas: As tabelas deverão ser acompanhadas de cabeçalho que permita compreender o significado dos dados reunidos, sem necessidade de referência ao texto.

Grandezas, unidades e símbolos:

- a) Os manuscritos devem obedecer aos critérios estabelecidos nos Códigos Internacionais de cada área.
- b) Utilizar o Sistema Internacional de Unidades em todo texto.
- c) Utilizar o formato potência negativa para notar e inter-relacionar unidades, e.g.: kg ha⁻¹. Não inter-relacione unidades usando a barra vertical, e.g.: kg/ha.
- d) Utilizar um espaço simples entre as unidades, g L⁻¹, e não g.L⁻¹ ou gL⁻¹.
- e) Usar o sistema horário de 24 h, com quatro dígitos para horas e minutos: 09h00, 18h30.

8. Citações dos autores no texto

Deverá seguir o sistema de chamada alfabética seguidas do ano de publicação de acordo com os seguintes exemplos:

- a) Os resultados de Dubey (2001) confirmaram que
- b) De acordo com Santos et al. (1999), o efeito do nitrogênio.....
- c) Beloti et al. (1999b) avaliaram a qualidade microbiológica.....
- d) [...] e inibir o teste de formação de sincício (BRUCK et al., 1992).
- e) [...]comprometendo a qualidade de seus derivados (AFONSO; VIANNI, 1995).

Citações com dois autores

Citações onde são mencionados dois autores, separar por ponto e vírgula quando estiverem citados dentro dos parênteses.

Ex: (PINHEIRO; CAVALCANTI, 2000).

Quando os autores estiverem incluídos na sentença, utilizar o (e)

Ex: Pinheiro e Cavalcanti (2000).

Citações com mais de dois autores

Indicar o primeiro autor seguido da expressão et al.

Dentro do parêntese, separar por ponto e vírgula quando houver mais de uma referência.

Ex: (RUSSO et al., 2000) ou Russo et al. (2000); (RUSSO et al., 2000; FELIX et al., 2008).

Para citações de diversos documentos de um mesmo autor, publicados no mesmo ano, utilizar o acréscimo de letras minúsculas, ordenados alfabeticamente após a data e sem espaçamento.

Ex: (SILVA, 1999a, 1999b).

As citações indiretas de diversos documentos de um mesmo autor, publicados em anos diferentes, separar as datas por vírgula.

Ex: (ANDRADE, 1999, 2000, 2002).

Para citações indiretas de vários documentos de diversos autores, mencionados simultaneamente, devem figurar em ordem alfabética, separados por ponto e vírgula.

Ex: (BACARAT, 2008; RODRIGUES, 2003).

9. Referências: As referências, redigidas segundo a norma NBR 6023, ago. 2000, e reformulação número 14.274 de 2011 da ABNT, deverão ser listadas na ordem alfabética no final do artigo. **Todos os autores participantes dos trabalhos deverão ser relacionados, independentemente do número de participantes.** A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo, bem como opiniões, conceitos e afirmações são da inteira responsabilidade dos autores.

Observação: Consultar os últimos fascículos publicados para mais detalhes de como fazer as referências do artigo.

As outras categorias de trabalhos (Comunicação científica, Relato de caso e Revisão) deverão seguir as mesmas normas acima citadas, porém, com as seguintes orientações adicionais para cada caso:

Comunicação científica

Uma forma concisa, mas com descrição completa de uma pesquisa pontual ou em andamento (nota prévia), com documentação bibliográfica e metodologias completas, como um artigo científico regular. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Corpo do trabalho sem divisão de tópicos, porém seguindo a sequência - introdução, metodologia, resultados (podem ser incluídas tabelas e figuras), discussão, conclusão e referências bibliográficas.

Relato de caso

Descrição sucinta de casos clínicos e patológicos, resultados inéditos, descrição de novas espécies e estudos de ocorrência ou incidência de pragas, microrganismos ou parasitas de interesse agrônomo, zootécnico ou veterinário. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Introdução com revisão da literatura; Relato do (s) caso (s), incluindo resultados, discussão e conclusão; Referências Bibliográficas.

Artigo de revisão bibliográfica

Deve envolver temas relevantes dentro do escopo da revista. O número de artigos de revisão por fascículo é limitado e os autores somente poderão apresentar artigos de interesse da revista mediante convite de membro(s) do comitê editorial da Revista. No caso de envio espontâneo do autor (es), é

necessária a inclusão de resultados relevantes próprios ou do grupo envolvido no artigo, com referências bibliográficas, demonstrando experiência e conhecimento sobre o tema.

O artigo de revisão deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Desenvolvimento do tema proposto (com subdivisões em tópicos ou não); Conclusões ou Considerações Finais; Agradecimentos (se for o caso) e Referências Bibliográficas.

Outras informações importantes

1. A publicação dos trabalhos depende de pareceres favoráveis da assessoria científica "Ad hoc" e da aprovação do Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias, UEL.
2. Não serão fornecidas separatas aos autores, uma vez que os fascículos estarão disponíveis no endereço eletrônico da revista (<http://www.uel.br/revistas/uel>).
4. Transferência de direitos autorais: Os autores concordam com a transferência dos direitos de publicação do referido artigo para a revista. A reprodução de artigos somente é permitida com a citação da fonte e é proibido o uso comercial das informações.
5. As questões e problemas não previstos na presente norma serão dirimidos pelo Comitê Editorial da área para a qual foi submetido o artigo para publicação.
6. *Numero de autores:* Não há limitação para número de autores, mas deverão fazer parte como co-autores aquelas pessoas que efetivamente participaram do trabalho. Pessoas que tiveram uma pequena participação no artigo deverão ser citadas no tópico de Agradecimentos, bem como instituições que concederam bolsas e recursos financeiros.

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores devem verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão rejeitadas e aos autores informados da decisão.

1. Os autores devem informar que a contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao Editor".
2. Devem informar ainda que o material está corretamente formatado e que os Documentos Suplementares estão anexados, ESTANDO CIENTE que a **formatação incorreta importará na SUSPENSÃO do processo de avaliação SEM AVALIAÇÃO DE MÉRITO.**
3. **Devem ser preenchidos dados de autoria de todos os autores no campo Metadados durante o processo de submissão.**

Utilize o botão "**incluir autor**"

1. **No passo seguinte preencher os metadados em inglês.**

Para incluí-los, após salvar os dados de submissão em português, clicar em "**editar metadados**" no topo da página - alterar o idioma para o inglês e inserir: título em inglês, abstract e key words. Salvar e ir para o passo seguinte.

1. A **identificação de autoria** do trabalho deve ser removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em [Assegurando a Avaliação Cega por Pares](#).

2. Os arquivos para submissão devem estar em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapassem 2MB)

O texto deve estar em folha A4, com linhas numeradas, espaço 1,5; fonte Time New roman de tamanho 11;

1. Atestar que foram seguidas todas as normas éticas, em caso de pesquisa com seres vivos, estando de posse dos documentos comprobatórios de aprovação pela comissão de ética envolvendo seres humanos e/ou comissão de ética no uso de animais caso sejam solicitados.
2. **Efetuar o pagamento da Taxa de Submissão de artigos e anexar o comprovante como documento suplementar "Docs. Sup."**

Declaração de Direito Autoral

Os **Direitos Autorais** para artigos publicados nesta revista são de direito do autor. Em virtude da aparecerem nesta revista de acesso público, os artigos são de uso gratuito, com atribuições próprias, em aplicações educacionais e não-comerciais.

A revista se reserva o direito de efetuar, nos originais, alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical, com vistas a manter o padrão culto da língua e a credibilidade do veículo. Respeitará, no entanto, o estilo de escrever dos autores.

Alterações, correções ou sugestões de ordem conceitual serão encaminhadas aos autores, quando necessário.

As opiniões emitidas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.