



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

EDIANE ZANIN

**COMPORTAMENTO E BEM-ESTAR DE VACAS LEITEIRAS  
ALIMENTADAS COM FENO TIFTON 85 E VAQUERO NA  
SECAGEM**

---

Londrina  
2017

EDIANE ZANIN

**COMPORTAMENTO E BEM-ESTAR DE VACAS LEITEIRAS  
ALIMENTADAS COM FENO TIFTON 85 E VAQUERO NA  
SECAGEM**

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

Orientador: Prof. Dr. José Antonio Fregonesi.

Londrina  
2017

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

Zanin, Ediane.

Comportamento e bem-estar de vacas leiteiras alimentadas com feno tifton 85 e vaquero na secagem / Ediane Zanin. - Londrina, 2017.  
88 f. : il.

Orientador: José Antonio Fregonesi.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2017.

Inclui bibliografia.

1. Alimentação - Tese. 2. Fome - Tese. 3. Interrupção da lactação - Tese. 4. Vocalização - Tese. I. Fregonesi, José Antonio . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

EDIANE ZANIN

**COMPORTAMENTO E BEM-ESTAR DE VACAS LEITEIRAS  
ALIMENTADAS COM FENO TIFTON 85 E VAQUERO NA SECAGEM**

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

**BANCA EXAMINADORA**

---

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

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Andressa Amorim Cestari  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Valter Harry Bumbieris Junior  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 20 de Fevereiro de 2017.

*Dedico este trabalho aos meus pais Luiza e Odolir,  
aos irmãos e sobrinhos, ao namorado Anathan,  
a amiga Maria Ivone, e  
aos animais.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida e por me guiar nesta jornada.

Agradeço imensamente meus honrosos pais Luiza Baldo e Odolir Zanin pelo esforço dedicado à minha formação, apoio e amor incondicional. E a minha avó Carmelinda Baldo *in memoriam*. A vocês minha gratidão eterna!

A minhas irmãs Rosane e Ediciane, irmãos Gilvani, Silvano e Celio, exemplos de força de vontade, determinação e trabalho.

Aos amados sobrinhos Matheus, Gustavo, Isadora, Karine, Maria e João Vitor pela participação de muitos sonhos, inspirações, confortos e alegrias. Em especial ao Vinícius pelo valoroso companheirismo na realização do trabalho a campo.

Ao namorado Anathan Bichel pela sua indispensável companhia e amor sincero.

Agradeço ao meu orientador José Antonio Fregonesi, não só pela constante orientação neste trabalho, mas sobretudo pela sua amizade, dedicação, paciência, confiança e seus nobres ensinamentos. Minha eterna gratidão e admiração!

Às professoras presentes na banca de qualificação Carolina Amália de Souza Dantas Muniz e Sandra Galbeiro. E aos professores presentes na banca de defesa Valter Harry Bumbieris Junior e Andressa Amorim Cestari.

Agradeço também à professora Andressa Amorim Cestari pela dedicação, atenção e ensinamentos. Ao Mábio José Silvan Da Silva e Francine Mezomo Giotto que contribuíram para realização deste trabalho.

Às minhas amigas, Vanessa Holsbach, Melca Altoé de Machi e Livia Mangilli pela amizade, apoio e pelos momentos que partilhamos juntas. Em especial Maria Ivone Laskovski pela qual tenho admiração, carinho e respeito.

Aos professores do programa de pós-graduação em Ciência Animal, e as secretárias Helenice Kieski e Sandra Regina da Silva pela atenção e assistência.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao programa de pós-graduação em Ciência Animal e à Universidade Estadual de Londrina.

A todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento do trabalho.

Muito obrigada!

*“Não há diferença fundamental entre o homem e os animais nas suas faculdades mentais (...) Os animais, como o homem, demonstram sentir prazer, dor, felicidade e sofrimento”.*

Charles Darwin

ZANIN, Ediane. **Comportamento e bem-estar de vacas leiteiras alimentadas com feno tifton 85 e vaquero na secagem**. 2017. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

## RESUMO

O processo de interrupção da lactação é importante para o bem-estar de bovinos leiteiros e produção na lactação seguinte. As estratégias mais utilizadas para a secagem de vacas leiteiras estão baseadas na restrição alimentar, diminuição da frequência de ordenha e interferência hormonal. Entretanto, o processo de secagem causa estresse aos animais e como o bem-estar animal se tornou uma grande preocupação social, novas estratégias de secagem devem ser estudadas. Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da qualidade do feno sobre o comportamento e secagem de vacas leiteiras. Foram utilizadas 16 vacas da raça Holandesa, primíparas e multíparas com (média  $\pm$  DP) de peso vivo de  $521,56 \pm 59,54$  kg, escore de condição corporal  $3,22 \pm 0,36$ ;  $2,31 \pm 1,20$  partos, produção de leite  $12,69 \pm 2,15$  kg dia<sup>-1</sup>, e  $220,88 \pm 9,72$  dias de lactação. Os animais foram alojados individualmente em piquete maternidade de acordo com a data prevista para a secagem e distribuídos aleatoriamente em dois grupos balanceados de acordo com a produção de leite, dias de lactação, número de partos, peso vivo e escore de condição corporal, resultando em 8 vacas por tratamento em delineamento inteiramente casualizado. Durante nove dias as vacas foram submetidas às seguintes dietas: D1 – feno vaquero e D2 – feno de tifton 85. Nos três primeiros dias de adaptação as vacas receberam ração total de acordo com suas exigências (NRC, 2001), e a partir do dia zero de experimento passaram a receber somente feno fornecido *ad libitum*. O consumo de matéria seca, produção de leite, comportamento alimentar, repouso e vocalização foram monitorados. Não foram observadas alterações nos parâmetros comportamentais avaliados para os diferentes fenos fornecidos ( $p > 0,05$ ). O tempo despendido com alimentação variou significativamente para os dias do experimento ( $P = 0,0083$ ). A redução na produção de leite e a não alteração comportamental dos animais indica que os dois fenos podem ser utilizados no processo de secagem de vacas leiteiras.

**Palavras-chave:** Alimentação. Fome. Interrupção da lactação. Vocalização.

ZANIN, Ediane. **Behavior and welfare of dairy cows fed tifton 85 and vaquero hay at dry-off**. 2017. 88 p. Dissertacion (Master's Degree in Animal Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

### **ABSTRACT**

The process of interrupting lactation is important for the animal welfare and production at the next lactation. The most used strategies for drying of dairy cows are based on food restriction, reduction of milking frequency and hormonal interference. However, the drying process causes stress to animals and as animal welfare has become a major social concern, new drying strategies should be studied. Therefore, the objective of the present work was to evaluate the effect of hay quality on the behavior and drying of dairy cows. Sixteen Holstein cows were used, primiparous and multiparous (mean  $\pm$  SD) weighting of  $521.56 \pm 59.54$  kg, body condition score  $3.22 \pm 0.36$ ,  $2.31 \pm 1.20$  parity, milk yield  $12.69 \pm 2.15$  kg day<sup>-1</sup>, and  $220.88 \pm 9.72$  days of lactation. Animals were individually housed in a maternity pen according to drying date cows and were randomly assigned to two groups according to milk production, days in milk, parity, live weight and body condition score, resulting in 8 cows per treatment in a completely randomized design. During nine days cows were submitted to diets: D1 - vaquero and D2 - tifton 85 hay. In the first three days of adaptation cows received a total mixed ration according to their requirements (NRC, 2001), and from day zero of experiment they only received hay ad libitum. Dry matter intake, milk production, feeding behavior, rest and vocalization were monitored. No changes were observed in the behavioral parameters evaluated, for the different hay provided ( $P > 0.05$ ). The time spent feeding varied significantly along of the experiment ( $P = 0.0083$ ). The reduction in milk production and the non-behavioral changes of the animals indicate that both hays can be used in the drying process of dairy cows.

**Key words:** Feeding. Hunger. Interruption of lactation. Vocalization.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### REVISÃO DE LITERATURA

- Figura 1** – Diagrama de Venn ilustra os três conceitos de bem-estar animal ..... 15
- Figura 2** – Anatomia da glândula mamária de vaca leiteira..... 23
- Figura 3** – Representação do acúmulo de leite na glândula mamária..... 25
- Figura 4** – Curva de lactação de vacas da raça Holandesa..... 26

### ARTIGO

- Figura 1** – Representa a produção de leite e o consumo de matéria seca nos dias do experimento ..... 66

## LISTA DE TABELAS

### REVISÃO DE LITERATURA

<b>Tabela 1</b> – Indicadores de bem-estar de bovinos.....	22
<b>Tabela 2</b> – Causas e efeitos do manejo de secagem sobre o bem-estar de vacas leiteiras.....	29

### ARTIGO

<b>Tabela 1</b> – Cronograma de observações comportamentais e frequência de ordenha durante o experimento .....	64
<b>Tabela 2</b> – Composição bromatológica da ração total, feno vaquero e feno tifton 85 .....	64
<b>Tabela 3</b> – Variáveis climáticas durante o experimento.....	65
<b>Tabela 4</b> – Parâmetros comportamentais, produção de leite e consumo de matéria seca das vacas submetidas à secagem.....	65

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>14</b>
2.1	DEFININDO BEM-ESTAR ANIMAL.....	14
2.2	INDICADORES PARA AVALIAR O BEM-ESTAR DE VACAS LEITEIRAS .....	16
2.2.1	Saúde Básica.....	16
2.2.2	Estado Afetivo .....	18
2.2.3	Adaptações Naturais .....	20
2.3	INTERRUPÇÃO DA LACTAÇÃO – SECAGEM DE VACAS .....	23
2.3.1	A Glândula Mamária e Fases Da Secagem.....	23
2.4	BEM-ESTAR DE VACAS LEITEIRAS SUBMETIDAS AO PROCESSO DE SECAGEM .....	28
2.5	ESTRATÉGIAS DE SECAGEM.....	30
2.5.1	Frequência De Ordenha, Interferência Hormonal e Manejo Alimentar .....	30
2.5.2	A Utilização do Feno Como Estratégia De Secagem .....	35
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>39</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>50</b>
3.1	OBJETIVO GERAL .....	50
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	50
<b>4</b>	<b>ARTIGO Behavior and milk yield of dairy cows fed on two hay diets at dry-off.....</b>	<b>51</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>67</b>
	<b>APÊNDICES .....</b>	<b>68</b>
	APÊNDICE A Croqui esquemático da área experimental .....	69
	APÊNDICE B <i>Data logger</i> para mensurar o comportamento de repouso .....	70
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>71</b>
	ANEXO 1 Revista Brasileira de Zootecnia (Instruções para autores).....	72

## 1 INTRODUÇÃO

O bem-estar em animais de produção se tornou uma grande preocupação científica e social (VON KEYSERLINGK et al., 2009). De acordo com Zobel et al. (2015) poucos produtores e técnicos discordariam de que doenças em geral podem afetar o bem-estar, desempenho de vacas leiteiras e a rentabilidade da fazenda. No entanto, somente o foco na saúde não é suficiente para compreendermos o bem-estar animal. Preocupações sobre bem-estar animal vão além da saúde. Conforme Fraser (2012) o bem-estar animal total envolve os três conceitos: saúde básica, estado afetivo e adaptação natural.

O ciclo lactacional de uma vaca leiteira consiste em torno 305 dias de lactação, e para promover a saúde do úbere, o desenvolvimento do feto e a produção de leite na lactação seguinte, a ordenha deve ser interrompida cerca de 60 dias anteriores à data do parto (KUHN; HUTCHISON; LAWRENCE, 2005). O processo de interrupção da lactação (secagem), segundo Zobel et al. (2013) é importante para o bem-estar e produção na lactação seguinte. Ainda segundo esses autores, quando este período não é respeitado o principal problema está relacionado ao aumento de infecções intramamárias, dor e desconforto, devido ao úbere ingurgitado, restrição alimentar, alterações de comportamento e agressividade entre os animais.

As estratégias mais utilizadas para a secagem de vacas leiteiras estão baseadas na restrição alimentar, diminuição da frequência de ordenha e interferência hormonal. O manejo da frequência de ordenha pode ser realizado de forma abrupta ou gradual, associado ou não com a alimentação e ainda usar medicamentos como facilitadores de secagem. O manejo alimentar nesse período pode ser manipulado com redução de energia na dieta, através do fornecimento de volumosos com baixos teores energéticos, ou então se utiliza restrição alimentar empregada antes ou após a interrupção da ordenha. Porém, essa estratégia alimentar para reduzir a produção de leite é difícil de ser alcançada sem comprometer metabolicamente os animais, o desenvolvimento do feto e sem induzir à fome. Estudos realizados demonstraram que uma baixa produção de leite na época da secagem, reduz os riscos de infecções intramamárias durante o início do período seco e ao parto (ODENSTEN; HOLTENIUS; PERSSON-WALLER, 2007; ODENSTEN et al. 2007; VALIZAHEH et al., 2008; BACH; DE-PRADO; ARIS, 2015).

Neste contexto, há necessidade de realizar pesquisas que ofereçam medidas para proporcionar o bem-estar aos bovinos leiteiros durante o processo de secagem. A revisão a seguir almeja apontar a importância de um adequado manejo de secagem, e os efeitos que

podem ser ocasionados sobre o comportamento e bem-estar de vacas leiteiras. E a última parte deste trabalho consiste na apresentação do artigo, que teve como objetivo avaliar o efeito da qualidade do feno sobre o comportamento e secagem de vacas leiteiras.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 DEFININDO BEM-ESTAR ANIMAL

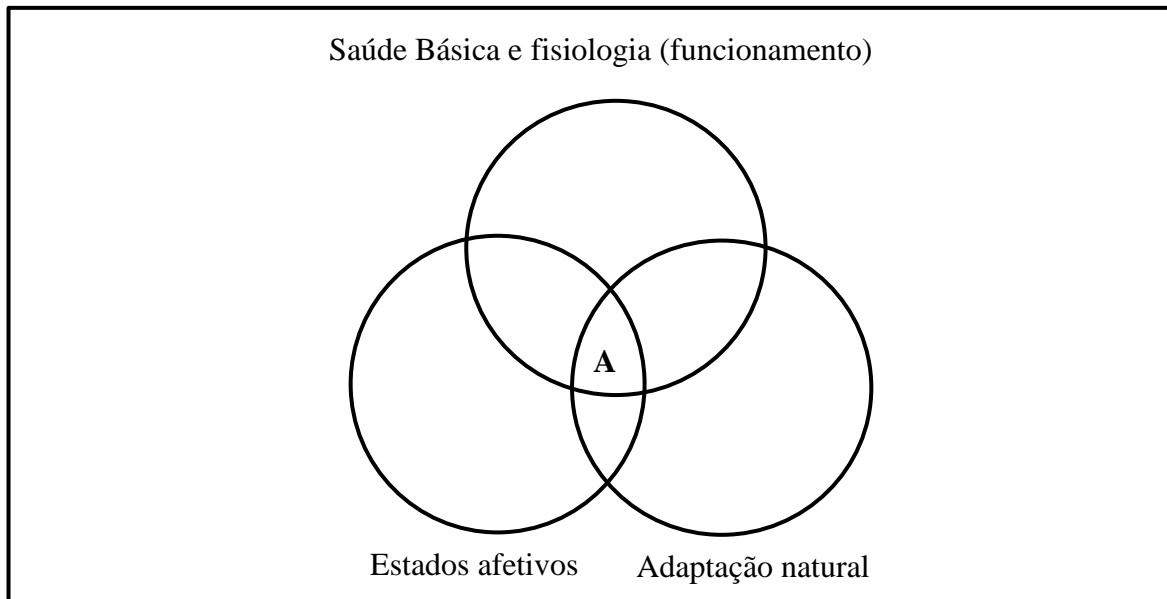
A ciência do bem-estar animal de acordo com Fraser (2008) é uma área de estudo “mandatória”, que surgiu do interesse ético da sociedade e com a preocupação com o bem-estar dos animais. Essa nova ciência foi criada na década de 60 a partir da publicação do livro intitulado *Máquinas animais* (HARRISON, 1964), que despertou na sociedade o conhecimento sobre os sistemas de produção animal industrial, que passou a se preocupar com o tratamento que os humanos davam aos animais. Diante disso, a sociedade britânica obrigou o parlamento inglês a tomar medidas para averiguar a qualidade de vida dos animais de produção, e estabeleceu-se um comitê formado por cientistas e produtores rurais (BRAMBELL, 1965) que reportaram a necessidade de investigações científicas adicionais sobre o bem-estar animal.

O termo bem-estar animal pode ser considerado subjetivo devido às influências culturais e diferentes visões das pessoas que compõem a sociedade, que variam em fatores éticos, científicos, religiosos e políticos (SWANSON, 1995). Ainda não existe uma definição científica única sobre o que significa o termo bem-estar animal (BROOM; MOLENTO, 2004). Essa definição única seria importante tanto para estudo como para aplicação de bem-estar aos animais em fazendas, laboratórios, instituições, etc. Em uma tentativa de elaborar uma única definição de bem-estar animal o Governo Britânico do Farm Animal Welfare Council – FAWC (Conselho do Bem-estar dos Animais de Fazenda) instituiu as cinco liberdades, as quais são aceitas até hoje, como uma descrição geral de bem-estar animal. De acordo com essas cinco liberdades os animais devem estar: 1) Livres de fome, sede e desnutrição; 2) Livres de desconforto; 3) Livres de dor, ferimentos e doenças; 4) Livres para expressar seu comportamento natural; 5) Livres de medo e estresse (FAWC, 2009). O consenso entre pesquisadores e políticos em muitos países sobre as cinco liberdades, é que elas fornecem uma indicação inicial sobre o que deve ser avaliado e disponibilizado aos animais (FAWC, 2003).

A definição de bem-estar animal mais aceita na atualidade é descrita em três conceitos: 1) Saúde básica e funcionamento; 2) Estado afetivo e 3) Adaptações naturais. As cinco liberdades incorporam esses três conceitos, por exemplo: em termos de saúde básica incorporam as doenças, estresse físico e lesões; em termos de adaptação natural incorporam a liberdade para executar comportamento natural; e em termos de estados afetivos incorporam o

desconforto, fome, sede, dor, angústia e medo. O bem-estar total é dado pela associação desses três conceitos (Figura 1, área A). Entretanto, em algumas situações eles podem ocorrer dissociados (FRASER, 2012).

Figura 1 – O diagrama de Venn mostra os três conceitos de bem-estar segundo Fraser (2012). A área “A” representa o bem-estar animal total por associar os três conceitos.



Fonte: Fraser, 2012.

Com relação à abordagem conceitual de funcionamento animal, o bem-estar é definido como o estado de um animal frente as suas tentativas de adaptação ao ambiente e o grau com que isso acontece. Portanto, quanto maiores as dificuldades de adaptação, menor será seu grau de bem-estar (BROOM, 1991). Para Duncan (1996) o bem-estar precisa ser definido estritamente em termos de estado afetivo, ou seja, considerar o que o animal está sentindo (medo, dor, sentir-se doente, fome, prazer, entre outros). A outra abordagem conceitual de bem-estar animal está relacionada à capacidade obtida de se adaptar durante o processo evolutivo da espécie (adaptação natural). Dessa forma, o bem-estar será alcançado enquanto ele for capaz de viver de acordo com a adaptação natural na qual a sua espécie evoluiu (BARNARD; HURST, 1996).

O bem-estar animal pode variar entre uma graduação linear de muito bom ao muito ruim, avaliado de acordo com o estado biológico do animal, seus comportamentos e suas preferências (BROOM, 1991). Em bovinos leiteiros, por exemplo, uma vaca com dor em um membro (estado afetivo) apresenta menor produção de leite e baixo desempenho reprodutivo (funcionamento biológico), conseqüentemente nesta situação a mobilidade desse animal será reduzida (comportamento natural) (FRASER, 2003).

## 2.2 INDICADORES PARA AVALIAR O BEM-ESTAR DE VACAS LEITEIRAS

### 2.2.1 Saúde Básica

A saúde básica ou funcionamento biológico, é caracterizado quando o animal apresenta saúde, tem um bom crescimento, ausência de lesões, problemas reprodutivos, e está livre de estresse. As medidas de saúde são indicadores potencialmente úteis para avaliar o bem-estar dos animais (BROOM, 2006). A doença é considerada como uma das principais causas que afetam o bem-estar de animais de fazenda. Os bovinos de todas as idades e de todos os sistemas de produção sofrem com diferentes tipos de doenças e lesões físicas, ocasionadas pela carência nas instalações ou manejo (RUSHEN; HALEY; PASSILLÉ, 2007). Pressupõe-se que a doença em muitos casos pode estar associada a experiências negativas, como a dor, desconforto ou estresse. Em casos de doenças que provocam dores crônicas, o sofrimento se estende por longo prazo, impactando fortemente o bem-estar (CERQUEIRA et al., 2011).

Apesar de parecer claro que bem-estar depende de boas condições de saúde e que medidas da incidência de doenças são usadas para avaliar o bem-estar, é necessário estimar o impacto relativo dessas doenças. Não existe uma maneira de medir diretamente o sofrimento causado ao animal pelas diferentes doenças, mas há uma abordagem indireta que consiste em comparar diferentes doenças através da gravidade dos sintomas. A gravidade pode ser avaliada pela duração da doença e a probabilidade de morte. Além disso, podem ser avaliados os sintomas comuns que diferentes doenças podem apresentar (RUSHEN; HALEY; PASSILLÉ, 2007).

Os indicadores de limpeza, lesões de cascos, jarrete e a claudicação de vacas leiteiras, por exemplo, são importantes para avaliar o bem-estar (ANDREASEN; FORKMAN, 2012; GONZÁLEZ et al., 2008). Entretanto, existem dificuldades para identificar a gravidade de cada um, pois nem sempre são identificadas no estágio inicial, devido ao grande número de animais dos rebanhos e falta de observação diária da fazenda (TADICH et al., 2010). De acordo com Chapinal et al. (2010) vacas leiteiras com lesões no casco apresentam dificuldade de locomoção, dessa forma permanecem deitadas por longos períodos, e isso aumenta o contato com superfícies de concreto utilizadas em galpões, ocasionando o agravamento das lesões.

As alterações no comportamento de vacas leiteiras podem indicar que o animal está sob estresse ou ocorrência de alguma doença (WEARY; HUZZEY; VON

KEYSERLINGK, 2009). Uma doença mais comum e dolorosa que acomete o rebanho leiteiro é a mastite clínica aguda. Sabe-se que as vacas acometidas com esta doença apresentam alterações de comportamento e geram grandes perdas econômicas na atividade leiteira. Elas passam menos tempo em repouso e aumentam a reatividade durante a ordenha, o que pode estar associado com o desconforto (MEDRANO-GALARZA et al., 2012). No trabalho realizado por Sepúlveda-Varas et al. (2016) foi encontrada alteração no comportamento alimentar de vacas que receberam por três dias consecutivos o tratamento intramamário com antibiótico, visto que, logo após receber o tratamento, as vacas aumentaram imediatamente o consumo de ração, o tempo despendido com a alimentação e o número de visitas ao alimentador.

Quando se iniciaram as pesquisas sobre bem-estar animal, as primeiras tentativas foram associar o conceito bem-estar com alguma teoria já existente, e a primeira teoria adotada foi à fisiopatologia do estresse, que se referia à palavra estresse como pressão ou tensão fisiológica, mental e/ou emocional. Porém pesquisadores como Walter Canon na década de 1900, propôs que as emoções negativas que os animais sentem podem interromper alguma atividade fisiológica do organismo. Com isso, as pesquisas sobre o estresse foram sendo voltadas ao sistema nervoso simpático (SNS). E a partir desses resultados, mesmo considerando este sistema como uma resposta fisiológica importante em situações de desafios, o pesquisador Hans Selye encontrou uma complexidade das respostas do corpo aos diferentes desafios. E isso despertou novas descobertas sobre o estresse, como por exemplo, o pesquisador George Chrousos que reconheceu que o sistema de estresse possui interações com todos os sistemas endócrinos do corpo, sistemas cardiovascular, respiratório, imune, digestório, reprodutivo e que influencia em um conjunto de doenças (FRASER, 2012).

E ainda, de acordo com Moberg (1996, 2000) para que uma resposta de estresse seja interpretada em termos de bem-estar animal, deve ocorrer primeiramente o reconhecimento ou a percepção do estressor, que em seguida desencadeia respostas comportamentais e fisiológicas, ou seja, as reações de defesa contra o estressor. Se recursos biológicos do animal forem utilizados em excesso para essas ações de defesa, um estado pré-patológico pode ocorrer, e em situações prolongadas resultam em alguma patologia de longa duração. Deste modo, o entendimento sobre o sistema SNS serviu como base para compreender alguns problemas relacionados ao bem-estar do animal. Hemsworth et al. (2000) observaram que ao realizar estímulos negativos no manejo dos animais de produção, o resultado obtido é a baixa produtividade. E essa explicação segundo Fraser (2012) deve-se ao conhecimento do sistema SNS, pois o medo que as vacas sentem das pessoas poderia ativar

este sistema e inibir a liberação dos hormônios que promovem o crescimento, reprodução e produção de leite.

Em uma situação de estresse é comum em vacas leiteiras ocorrer à inibição da liberação de ocitocina durante a ordenha. Esta inibição pode ser influenciada por diversos fatores, à medida que são expostas a um agente estressor, como por exemplo, o isolamento social, medo de pessoas estranhas na ordenha e causas que provocam dor (MACUHOVÁ et al., 2002; VAN REENEN et al., 2002). O estresse térmico também afeta o bem-estar de vacas leiteiras refletindo principalmente, na redução do consumo de matéria seca, da produção de leite, e baixo desempenho reprodutivo (KARGAR et al., 2015).

### 2.2.2 Estado Afetivo

A preocupação com o bem-estar dos animais mesmo levando-se em conta a saúde básica e adaptação natural, envolve ainda discussões com relação ao seu estado afetivo, ou seja, o quanto os sentimentos e emoções estão sendo afetados em consequência de dor, angústia, e sofrimento. Apesar desses sentimentos não serem observados diretamente, os cientistas desenvolveram métodos para mensurar e identificar determinados sinais específicos de comunicação, que os animais apresentam. Nas fazendas os bezerros, leitões e até pintainhos são separados das mães e apresentam um estado emocional desagradável – a angústia da separação, na qual emitem vocalizações angustiantes, altas e com frequência (FRAZER, 2012).

O comportamento de vocalizar conduz ações diárias de sobrevivência e interações sociais (MANTEUFFEL; PUPPE; SCHÖN, 2004). Alguns sons emitidos pelos animais evoluíram como sinais de comunicação de “necessidade,” outros como alarme, e fome, podendo assim considerar vocalizações como indicador de um estado afetivo do animal (DAWKINS, 1998; WEARY; FRASER, 1995). De acordo com Manteuffel, Puppe e Schön (2004) em fazendas leiteiras alguns fatores que originavam vocalizações podem estar extintos, por exemplo, uma vaca com um úbere cheio vocalizava para atrair sua cria, e a cria por sua vez vocalizava para obter a sua alimentação. Entretanto, outros fatores continuam evidentes, como a alteração da frequência de vocalização durante a execução da marca de ferro quente em bezerros (WATTS; STOOKEY, 1999) e durante a separação das vacas de bezerros (WATTS et al., 2001; MARCHANT-FORDE; WEARY 2002).

Também tem sido demonstrado que o ambiente desconhecido para vacas leiteiras interfere nos seus padrões de comportamentos sociais e incidem no aumento dos

comportamentos de defecar, urinar e vocalizar. Além disso, as interações negativas homem vs. animal podem conduzir a interações agonísticas, medo, desequilíbrio hormonal, estresse e dificuldades no manejo, afetando negativamente a produção e bem-estar animal. Ao contrário disso, quando essas interações são positivas permitem-se aumentos na produção leiteira, e no desempenho reprodutivo (RUSHEN et al., 1999; BREUER et al., 2000).

As alterações comportamentais dos animais podem ser utilizadas para avaliar o bem-estar. Os comportamentos anormais, por exemplo, podem indicar que está faltando um elemento importante no ambiente, para funcionamento normal do animal e podem refletir algum estado afetivo negativo. Como por exemplo, o comportamento anormal observado em bezerros de sugar urina, lambar e morder objetos, e a atividade de vácuo (o enrolar da língua) observada em vacas leiteiras confinadas (FRASER, 2009). Deste modo, os testes de preferência, motivação e aversão podem fornecer respostas sobre os estados positivos e negativos dos animais.

Os testes de preferência possibilitam uma avaliação feita sob ponto de vista do próprio animal. Através deste teste podemos determinar qual é a escolha do animal e oferecer condições de bem-estar aprimorando determinados tipos de ambientes, e preferência por determinados alimentos. Realiza-se em 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. Uma limitação deste teste é o número de opções de escolhas fornecidas nos tratamentos, nem sempre a opção escolhida pode ser a que o animal prefere, pois existem diferenças de preferências entre idade, categoria, estados fisiológicos e experiências anteriores que foram negativas (ABADE et al., 2015; FREGONESI; VON KEYSERLINGK; WEARY, 2009; TUCKER; WEARY; FRASER, 2003). Os testes de motivação são complementares ao de preferência, porém nestes os animais quantificam a força da preferência, ou seja, precisam executar uma tarefa, como apertar um botão ou empurrar uma porta, para obter ou ter acesso a escolha preferida (MATTHEWS; LADEWIG, 1994).

Outro teste utilizado é o de aversão, neste os animais fornecem informações sobre quais tipos de sentimentos e situações eles procuram evitar, pois as medidas para evitar determinada situação categorizam suas experiências. Quando um animal é colocado em situações que causam angústia, sua resposta comportamental irá depender da natureza da situação a qual está exposto (RUSHEN; HALEY; PASSILLÉ, 2007). Peters et al. (2010) avaliaram os efeitos do manejo aversivo e neutro na condução de vacas holandesas. No manejo aversivo os animais eram conduzidos até a sala de ordenha com gritos, sem respeitar a

velocidade de deslocamento e usavam varas para bater nos animais. Enquanto no neutro não foi aplicada nenhuma ação positiva ou negativa nos animais. Neste experimento as vacas que receberam tratamento aversivo apresentaram maior ocorrência de defecação na sala de ordenha, foram mais reativas e produziram menos leite que as vacas que receberam o manejo neutro. Através destes testes podemos obter resultados sobre alguns estados afetivos dos animais.

### 2.2.3 Adaptações Naturais

A questão existente no meio científico sobre a importância da adaptação natural para proporcionar condições ideais de bem-estar aos animais ainda gera dúvidas. Quando se fala que um ambiente artificial pode oferecer condições prejudiciais ao animal, o ambiente natural também pode apresentar condições negativas, como exemplo, o clima, presença de predadores e ausência de alimentos em determinadas épocas do ano. Sendo assim, existe uma forma de evitar complicações de entendimento do termo naturalidade se não interpretarmos esse termo relacionado ao ambiente e comportamento natural, mas sim em termos de adaptações anatômicas, fisiológicas, afetivas, cognitivas e comportamentais que os animais apresentam (FRASER, 2012).

Algumas adaptações naturais que os animais desenvolvem têm sido estudadas para compreender melhor a relação que possam ter com o bem-estar do animal. Existem comportamentos que os animais desempenham a fim de garantir seu bem-estar. A maioria das espécies, por exemplo, desempenham o comportamento natural de vocalizar, o qual em situações de perigo pode representar sinal de alarme sobre existência de predador. Na espécie bovina uma adaptação natural que as vacas desempenham dias antes do parto é afastar-se do rebanho, a procura de um ambiente favorável para parir e que ofereça segurança ao filhote (SPINKA, 2006; DAWKINS, 2004). Outro exemplo que pode ser citado é adaptação dos filhotes ao aleitamento artificial, por questão de sobrevivência e pela separação da cria da mãe (PASSILÉ, 2001; ALPPLEBY et al., 2001).

A grande preocupação na ciência do bem-estar animal com relação ao comportamento ou adaptação natural se baseia na incapacidade de realizar determinado comportamento que o animal está motivado. Esse fato pode ser representado quando animais alojados, não podem se afastar do rebanho antes de parir. A questão referente a essa preocupação é se a interrupção da motivação pode afetar determinado conceito de bem-estar ao deixar de desempenhá-lo (RUSHEN; HALEY; PASSILLÉ, 2007). A grande maioria das

instituições de pesquisa, fazendas e zoológicos procuram oferecer aos animais condições de bem-estar permitindo que vivam de uma maneira que melhor corresponde às suas adaptações naturais específicas ou de cada espécie. Para a categoria de animais pastejadores é fornecido um ambiente em que possam executar o comportamento de pastejar com frequência. E para os animais que vivem em zoológicos o enriquecimento ambiental é uma boa alternativa para aproximá-los da adaptação natural (FRASER, 2012).

Alguns dos comportamentos naturais que os bovinos leiteiros desenvolvem e que possuem relevada importância para o bem-estar são: repouso, alimentação e ruminação. O tempo médio de repouso das vacas e a frequência com que cada animal se deita são influenciados pelo tipo de estabulação, incluindo o tipo de piso, dieta, hierarquia social, estrutura da baia entre outros fatores associados (DECHAMPS et al., 1989). Fregonesi et al. (2007) avaliaram os efeitos da qualidade da cama sobre o comportamento e preferência de vacas leiteiras com acesso a dois tipos de cama (seca ou molhada). No período em que o acesso estava restrito apenas para cama molhada as vacas passaram  $8,8 \pm 0,8$  h/d deitadas, e quando fornecida a cama seca o tempo aumentou para  $13,8 \pm 0,8$  h/d. Durante o período de livre-escolha, todas as vacas passaram mais tempo deitadas na cama seca  $12,5 \pm 0,3$  h/d, do que na cama molhada  $0,9 \pm 0,3$  h/d. Dessa forma, os autores concluíram que as vacas leiteiras mostram uma clara preferência por uma superfície seca ao invés de úmida.

O comportamento alimentar é observado através do tempo e frequência de alimentação, podendo ser influenciado por condições ambientais, manejo e características da dieta, alterando o tempo gasto em cada uma das atividades e sua distribuição ao longo do dia (MARQUES; PINTO; NASCIMENTO, 2008). A ruminação exerce um efeito importante na redução do tamanho das partículas dos alimentos e sobre o material sólido no rúmen. O início da ruminação ocorre entre meia e uma hora e meia após a ingestão do alimento. O número e a duração dos ciclos de ruminação dependem do teor da fibra e tamanho das partículas, número das refeições e da quantidade de alimento ingerido. Pode-se observar por dia de a 4 a 24 períodos de ruminação de 10 a 60 minutos cada, podendo chegar a 7 horas por dia despendidas com ruminação (SILVA et al., 2010; SILVA et al., 2006; SILVA et al., 2007).

A tabela 1 apresenta uma síntese dos indicadores comportamentais e fisiológicos utilizados para avaliar o bem-estar de bovinos e sua importância para a avaliação descrita na literatura científica (FRASER, 2012; RUSHEN; HALEY; PASSILLÉ, 2007). Por exemplo, um indicador comportamental avaliado de forma direta, é a vocalização, pois há evidências científicas que esse comportamento afeta o bem-estar do animal em termos de estado afetivo, representando sentimentos de dor, fome, medo e comunicação. O indicador

fisiológico de saúde é considerado indireto, devido à existência de evidências divergentes que dependem de causa e efeito na saúde ou estado afetivo dos animais para que sejam validados em termos de bem-estar animal. Os comportamentos naturais e anormais citados na tabela 1 são dependentes de evidência científica para sua validade e importância para o de bem-estar animal.

Um olhar crítico sobre os sinais que os animais estão transmitindo pode favorecer a prevenção de doenças e controle de riscos que o ambiente oferece. E os indicadores para avaliação do bem-estar de bovinos oferecem subsídios para desvendar os diferentes problemas que ocorrem dentro de uma fazenda, laboratório e instituições de pesquisas. Dessa forma, um trabalho em conjunto de técnicos e produtores com observações contínuas de instalações, equipamentos, manejo e principalmente dos animais, permitirá a garantia do bem-estar e conseqüentemente produzir com eficiência.

Tabela 1 – Indicadores para avaliação do bem-estar de bovinos

<b>Tipo do indicador</b>	<b>Descrição ou exemplos</b>	<b>Validade/importância do indicador de BEA</b>
<b>Comportamentais</b>		
*Comportamento natural	Pastar, ruminar, ofegar, repousar, etc...	Depende de evidência científica
Comportamento anormal	Automutilação, sugar, morder, lamber, estereótipos, atividade a vácuo, etc...	Depende de evidência científica
Preferência Aversão Motivação	Ambiente ou parte de um ambiente, manejos, e alimentação	Direto em curto prazo
Vocalização	Fome, dor, separação entre vaca/bezerra, medo, comunicação	Direto
<b>Fisiológicos</b>		
Saúde	Produção e produtividade, e eficiência reprodutiva	Indireto
Doença	Mastites, lesões podais, metrites, mortalidade, doenças respiratórias, metabólicas, e reprodutivas	Direto
Estresse	Mochação e descorna, separação vaca/bezerro, manejo aversivo, etc...	Indireto

Direto: há evidências científicas que afeta o bem-estar animal; Indireto: há evidências divergentes que dependem de causa e efeito na saúde ou estado afetivo dos animais para que sejam validados em termos de bem-estar animal. BEA: Bem-estar animal. \*Naturalidade ou adaptações naturais

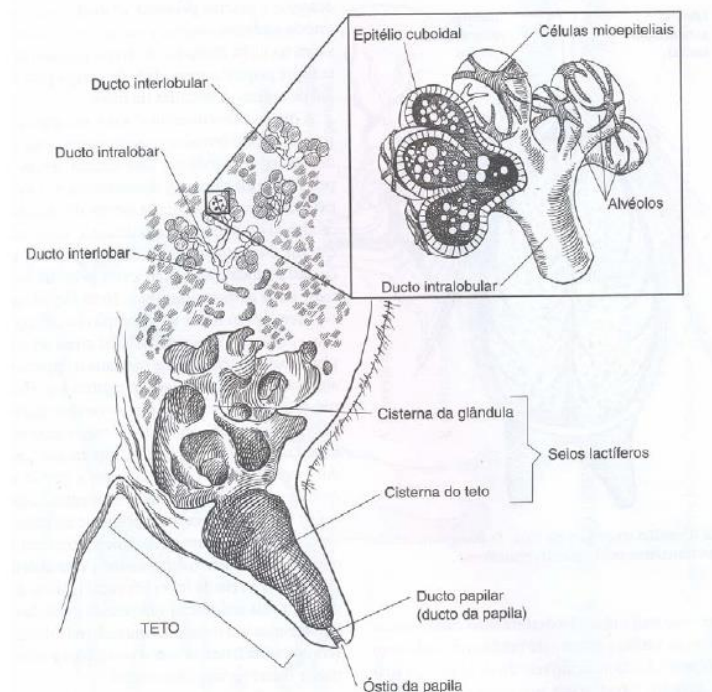
**Fonte:** o próprio autor

## 2.3 INTERRUPTÃO DA LACTAÇÃO – SECAGEM DE VACAS

### 2.3.1 A Glândula Mamária e Fases Da Secagem

Anatomicamente as glândulas mamárias são consideradas glândulas sudoríparas modificadas para produzir o leite. São formadas desde a fase embrionária e tem a formação propriamente dita na puberdade, por ação dos hormônios estrógeno e progesterona. A capacidade para produção de leite ocorre somente na gestação, quando há atuação principalmente de progesterona e formação do tecido constituído por alvéolos e células secretoras. O úbere da vaca possui quatro quartos diferentes e cada um é formado por milhões de alvéolos, os quais são agrupados em lóbulos formando o lobo. O lobo drena o leite para a cisterna da glândula - *Sinus galactóforo*, que armazena o leite produzido pelas células secretoras. Em seguida o leite é escoado para a cisterna do teto - *Sinus papillaris* até ser liberado para o meio externo pelo orifício do teto – *Ductos papillaris* observado na Figura 2 (FRANDSON; WILKE; FAILS, 2005).

Figura – 2 Anatomia interna da glândula mamária de vaca leiteira



Fonte: Frandson; Wilke e Fails (2005)

A ejeção do leite é devido a um reflexo neuroendócrino desencadeado pelo estímulo de sucção ou limpeza do úbere, esse estímulo é conduzido pelos nervos somáticos e

medula espinal até ao hipotálamo para liberação da ocitocina pela hipófise posterior. Nessa região, ocorre inibição de neurônios dopaminérgicos e liberação do hormônio prolactina, estimulando assim a secreção alveolar do leite. A ocitocina atua por sete a dez minutos na contração das células mioepiteliais que envolvem os alvéolos, as quais sintetizam e secretam as proteínas e gorduras do leite. Essas quando estimuladas se contraem e comprimem os alvéolos fazendo o leite escoar pelos canais até chegar à cisterna da glândula mamária e do teto (CUNNINGHAM, 2004). Portanto, se não houver estímulos externos na glândula mamária não haverá liberação de ocitocina e secreção do hormônio prolactina.

O desenvolvimento da glândula mamária (mamogênese) ocorre em quatro fases distintas desde o nascimento até o primeiro parto. Na fase de crescimento isométrico o desenvolvimento da glândula mamária ocorre com intensidade proporcional aos demais tecidos do corpo divididas em duas fases: do nascimento ao terceiro mês de idade e da puberdade até o terceiro mês de gestação. Já no crescimento alométrico o desenvolvimento ocorre de 2 ou 4 vezes mais rápido que os demais tecidos corporais nas fases entre os 3 meses de idade, logo após a ocorrência da puberdade, e nos dois terços finais da gestação. Considera-se o crescimento alométrico como susceptível a efeitos negativos de manejo nutricional superestimado, pois o alongamento e ramificação dos ductos primários em maior proporção ocorrem nesse período (SEJRSEN, et al., 1982; TUCKER, 1987).

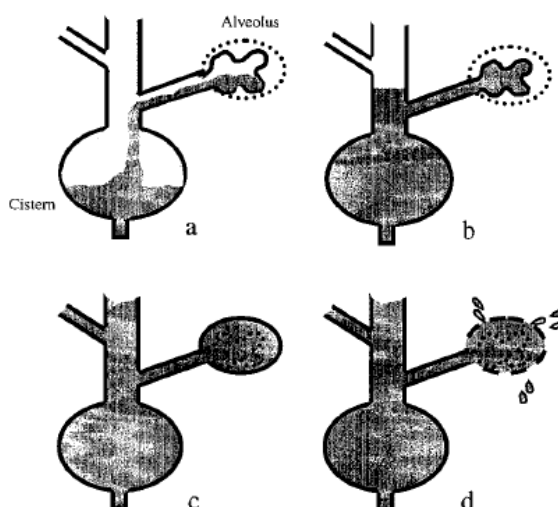
As modificações fisiológicas no período de secagem com interrupção da ordenha são divididas em três fases: a regressão ativa da glândula, fase de regressão constante e a lactogênese ou colostrogênese. Essas fases apresentam diferenças na função glandular e na atividade das células secretoras da glândula mamária, havendo alterações na composição química e celular da secreção no período de secagem (BIRGEL, 2009).

A fase da regressão ativa da glândula tem duração de trinta dias e ocorre em duas etapas distintas, incluindo um declínio gradual de produção de leite após o pico de lactação e logo quando se interrompe a ordenha. Após a última ordenha há continuação da secreção de leite que se acumula no interior da glândula provocando um aumento na pressão dos alvéolos, observado na figura 3. O acúmulo de leite por um período maior que trinta e seis a sessenta horas (Figura 3d) resultará na inibição da produção de leite pelas células secretoras, induzindo a regressão da glândula mamária (SMITH; TUDHUNTER, 1982) e tornando o processo irreversível (JAGGI et al., 1996). O inibidor de *feedback* de lactação (FIL) é uma proteína contida no leite sintetizada pelas células excretoras que possui ação inibidora sobre essas células excretoras limitando a secreção posterior do leite. A ativação do FIL ocorre apenas em contato com as células excretoras com efeito dependente da concentração, ou seja,

quanto maior o volume de leite acumulado menor será a secreção do leite (WILDE et al., 1995). A partir do momento que o processo se torna irreversível, ocorre morte celular por apoptose, a qual pode ser responsável pela perda progressiva de células secretoras, em casos de eventuais reduções da produção de leite durante a lactação, e no declínio da produção após o pico de lactação (WILDE et al., 1997).

No final da regressão ativa ocorre a regressão constante que varia com a duração do período seco. Nessa fase a glândula mamária está completamente involuída e as estruturas dos alvéolos continuam presentes, porém sem desempenhar sua função de síntese láctea. Aos quinze a vinte dias antes do parto se inicia a lactogênese, caracterizado por ser um período de regeneração, de diferenciação das células epiteliais secretoras e como principal função da glândula mamária a produção e armazenamento do colostro (SMITH; TUDHUNTER, 1982).

Figura 3 – Modelo proposto por Stelwagen (2001) de acúmulo de leite na glândula mamária



a. Acúmulo de leite no alvéolo durante as primeiras 16 horas de interrupção de ordenha e drenagem para cisterna; b. Acúmulo de leite nas primeiras 16 horas sem exceder a capacidade do alvéolo; c. Acúmulo de leite durante 18 horas, alvéolos com máxima distensão, alterando o funcionamento da glândula mamária; d. Involução da glândula mamária a partir de 36 horas de acúmulo de leite com máxima capacidade.

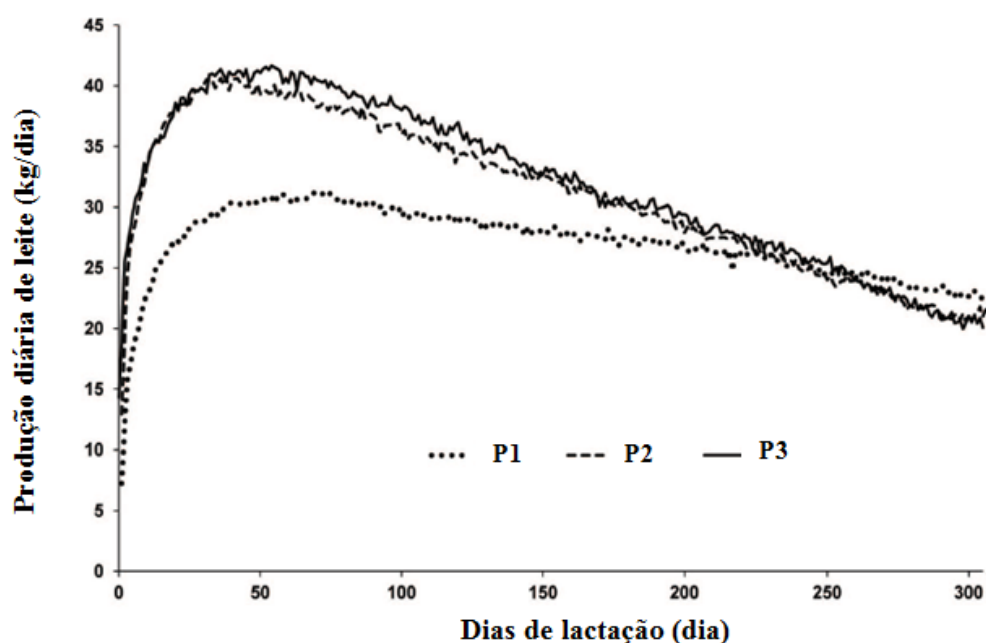
**Fonte:** Stelwagen (2001).

O ciclo de lactação de uma vaca leiteira nos sistemas atuais de criação é em torno de 305 dias em lactação e 60 dias de período seco, porém os dias em lactação são variáveis de acordo com o nível de produção e casos de incidência de infecções intramamárias. A curva de produção de leite de vacas holandesas, observada na figura 4 compreende três fases diferentes: a primeira fase é ascendente desde o início da lactação até

35 a 40 dias após o parto, na segunda fase ocorre o pico de lactação entre 4 a 8 semanas, e a terceira fase é descendente com redução gradual na produção de leite até o fim da lactação, quando ocorre a secagem. O conhecimento da curva de lactação é importante para gerir informações de planejamento, como por exemplo, ajustar a alimentação no pico de produção para aumentar o rendimento, data para inseminação artificial, previsão de parto e programar a data de secagem (LÓPEZ et al., 2015).

A forma de reduzir a produção de leite antes da secagem ao passar dos anos pode causar efeitos sobre o bem-estar. As práticas atuais de secagem baseiam-se no uso de antibióticos e raramente levam em consideração o nível de produção dos animais. As vacas estão sendo secas no período em que vacas de criações passadas apresentavam seus picos de produção (ZOBEL et al., 2015). De acordo com Cole et al. (2011) vacas de alta produção levariam em torno de 700 dias para alcançar níveis adequados de secagem. Há sugestões de se prolongar o período de lactação para beneficiar a reprodução e saúde de úbere (CHAGAS et al., 2007; ÖSTERMAN et al., 2005; BUTLER et al., 2010). Além disso, a produção de leite pode ser influenciada pelo fotoperíodo, alimentação, tratamentos hormonais e frequência de ordenha, e o rendimento é em função do número das células secretoras da glândula mamária e sua atividade metabólica (STELWAGEN, 2001).

Figura 4 – Curvas diárias de produção de leite de vacas Holandesas ao primeiro, segundo e terceiro parto



P1 – Paridade 1; P2 – Paridade 2; 3 – Paridade 3

Fonte: López, et al., 2015.

Após o período de lactação, as vacas leiteiras devem passar por um período seco, no qual a glândula mamária é submetida a um descanso de cerca de sessenta dias antes do parto, a fim de permitir a regeneração dos tecidos epiteliais, acumular colostro, assegurar o desenvolvimento do feto e completar as reservas corporais (ANNEN et al., 2004). Nessa fase o mecanismo de defesa do úbere está em desvantagem, portanto é importante realizar um programa para controle de mastites (LANGE-CONSIGLIO et al., 2014). A primeira defesa do úbere contra infecções intramamárias após a secagem é a formação de uma camada de queratina na extremidade do teto (DINGWELL et al., 2004). Vários estudos vêm demonstrando formas para prevenção e tratamento das infecções, ocasionadas por uma variedade de patógenos contagiosos e ambientais que ocorrem no período seco (HALASA et al., 2009; GOLDER; HODGE; LEAN, 2016).

Existem várias discussões no meio científico sobre a duração do período seco para sustentar a produção de leite na lactação seguinte. A duração do período seco de quarenta a sessenta dias entre as lactações foi estabelecida ao passar dos anos como ideal para maximizar a produção de leite, pois um período seco inferior a quarenta dias irá diminuir a produção de leite na lactação seguinte (ANNEN et al., 2004; WATTERS et al., 2008). Quando há uma completa omissão do período seco deprime-se a síntese e a secreção de leite na próxima lactação, pois não haverá regeneração das células alveolares podendo ocorrer uma perda na produção em torno de 12 a 25% (PEZESHKI et al., 2007; MADSEN et al., 2008; STEENEVELD et al., 2013).

Quando o período seco é reduzido para 30 dias, o fator que mais afeta a produção de leite é o número de lactações da vaca (ATASHI; ZAMIRI; DADPASAND, 2013). Isso pode estar associado com a maior exigência de regeneração das células da glândula mamária entre a primeira e segunda lactação (COLLIER; ANNEN-DAWSON; PEZESHKI, 2012). Além disso, a idade ao primeiro parto também influencia na resposta do curto período seco. Novilhas que parem cedo apresentam necessidades de período seco mais longo na primeira lactação (SANTSCHI; LEFEBVRE, 2014).

As informações da duração do período seco com relação à saúde do úbere ainda são escassas (COLLIER; ANNEN-DAWSON; PEZESHKI, 2012). Apesar da produção de leite e o processo de secagem ser considerados como fatores de risco para mastite, não foi encontrada nenhuma associação direta entre duração do período seco com o risco de mastite (SØRENSEN; ØSTERGAARD; BENNEDSGAARD, 2015).

No estudo conduzido por Van Hoeij et al. (2016) foi avaliado o efeito de diferentes comprimentos de período seco, sobre a ocorrência de infecções intramamárias

durante o pré-parto, elevações de células somáticas e mastite na lactação seguinte. Os resultados encontrados para a avaliação em que não foi realizado o período seco (0 dias), foi de maior ocorrência de células somáticas na lactação subsequente, quando comparada com 30 e 60 dias de período seco. A duração de 0 e 30 dias de período seco teve ocorrência de pelo menos uma elevação de células somáticas ( $\geq 200.000$  células/ml) e ocorrência de mastite pós-parto, quando comparados com o período seco convencional (60 dias). A não realização do período seco (0 dias) é desvantajoso para vacas que apresentaram contagem de células somáticas de  $\geq 200.000$  células/ml, pois estas apresentaram maior ocorrência de infecções intramamárias crônicas e menor taxa de cura durante o pré-parto, que vacas submetidas aos 30 e 60 dias de período seco.

As vacas leiteiras durante o pico de lactação apresentam a maior exigência nutricional e o período seco caracteriza-se como a segunda maior exigência no ciclo lactacional, e também é considerado como uma fase crítica, pois os animais estão se preparando para a próxima lactação (NRC, 2001). Desde a secagem até os 21 dias antes do parto, os animais são alimentados com dietas fibrosas para manter a condição corporal. Após os 21 dias considera-se como o período pré-parto, em que as vacas são submetidas a uma dieta de adaptação à dieta de alta energia pós-parto (ANDERSEN et al., 2005). A composição da dieta de acordo com NRC (2001) não pode exceder as necessidades energéticas dos animais que estão no período seco e o fornecimento de proteína metabolizável, vitaminas e de minerais devem ser adequados para a fase em questão, mantendo assim as necessidades nutricionais de final da gestação.

#### 2.4 BEM-ESTAR DE VACAS LEITEIRAS SUBMETIDAS AO PROCESSO DE SECAGEM

O bem-estar de vacas leiteiras durante o manejo de secagem pode ser facilmente avaliado através dos indicadores de estado afetivo, saúde básica e adaptações naturais dos animais representados na tabela 2 quando uma vaca passa pelo processo de secagem sem uso de tratamento preventivo e redução da produção de leite, por exemplo, poderá desenvolver mastite e conseqüentemente seu bem-estar será afetado. Pesquisas na área de bem-estar animal têm questionado como as repostas ao manejo da interrupção abrupta da ordenha no final da lactação de vacas com alto potencial leiteiro (ZOBEL et al., 2015).

Tabela 2 – Causas e efeitos do manejo de secagem sobre o bem-estar de vacas leiteiras

<b>Indicadores de BEA</b>	<b>Causas</b>	<b>Efeitos</b>
Saúde básica	Ausência de redução da produção de leite e tratamento preventivo	Infecções intramamárias - mastite
Estado afetivo	Pressão do úbere, restrição alimentar, isolamento do rebanho e ausência de rotina	Dor, fome, sede, desconforto, frustração e angústia
Adaptações naturais	Desconforto, dor e inchaço do úbere	Redução no tempo deitada e de alimentação, e aumento de vocalização

BEA: bem-estar animal

Fonte: o próprio autor

Uma das experiências que as vacas passam quando não há redução da frequência de ordenha para reduzir a produção de leite antes da secagem é a dor (SILANIKOVE et al., 2013). A dor pode ocorrer após a cessação abrupta de ordenha, a qual está associada com a pressão no úbere, capacidade de armazenamento atingida e aos danos causados nos tecidos da glândula mamária (BERTULAT et al., 2013). Newman et al. (2010) avaliaram o processo de secagem com probabilidade de infecções intramamárias após o parto, e concluíram que a redução da produção de leite antes da secagem foi significativamente associada com menor risco de infecções intramamárias durante o início do pós-parto, podendo assim manter uma boa saúde do úbere em um rebanho. Porém, o manejo para redução da produção de leite requer redução na alimentação, e essa estratégia pode causar a experiência de fome (VALIZAHEH et al., 2008).

Está bem estabelecido na literatura científica que a redução da energia nas dietas antes da secagem reduzirá a produção de leite, mas há poucos trabalhos que avaliam a fome desses animais submetidos a essas mudanças nas dietas. Essa dieta pode ser composta de alimentos com baixo nível de energia, como exemplo, o volumoso ou então o fornecimento reduzido de concentrado. Porém, a falta de nutrientes no final da lactação caracteriza-se como um desafio metabólico para as vacas, que apresentam sinais comportamentais de angústia, vocalizações e fome (ODENSTEN et al., 2007; VALIZADEH et al., 2008).

A fome é considerada um estado afetivo negativo do animal. As vacas leiteiras durante o manejo de secagem passam por essa experiência, e mesmo sendo de curto prazo pode ter um efeito negativo para o bem-estar desses animais. E para determinar esse estado afetivo são utilizados estudos comportamentais de vocalização (D'EATH et al., 2009). O comportamento de vocalização em vacas adultas pode ser ligado a períodos de sofrimento, isolamento social, dor, e a fome (WATTS; STOOKEY, 2000).

A vocalização também pode ser utilizada para avaliar se as vacas leiteiras passam por experiência de dor. Em um estudo de secagem de vacas com produção de 25 kg/d, Silanikove et al. (2013) sugeriu que o aumento de vocalizações era indicativo de úbere cheio de leite ou inchado com ingurgitamento (causa de dor), pois todas receberam a mesma mudança na dieta e seria improvável vocalizar pelo estado de fome.

A recompensa fornecida com alimentos concentrados após a ordenha motiva as vacas para serem ordenhadas durante a lactação, porém quando submetidas ao processo de secagem podem passar por um estado de frustração, pois o ciclo de recompensa não é finalizado (BROOM; MOLENTO, 2004), e uma experiência negativa pode ser ocasionada pela mudança de rotina (ZOBEL et al., 2013).

No período de secagem o tempo em que a vaca fica em pé ou deitada é utilizado para medir o desconforto causado pela pressão no úbere (MEDRANO-GALARZA et al., 2012). Quando o úbere está cheio ou ingurgitado, a vaca pode optar por ficar mais tempo em alguma das posições e pode mudar a escolha com frequência (ÖSTERMAN; REDBO, 2001). O tempo destinado para repouso de vacas em lactação é de 8 a 16 horas por dia (HALEY et al., 2001). No estudo de Stefanowska et al. (2000), o tempo despendido na posição deitada foi reduzido quando as vacas não foram ordenhadas. Existem evidências de que repousar seja um comportamento de prioridade para vacas leiteiras. Se o comportamento de repouso for restringido por várias horas durante o dia, as vacas preferem deitar ao invés de comer (MUNKGAARD et al., 2005).

O fim da lactação nos mamíferos tem como tendência natural ocorrer gradativamente a partir do momento em que a ingestão do leite se faz desnecessária para sua prole (VITALE et al., 1986). No entanto os métodos atuais usados para secagem do leite estão muito distantes do que ocorre naturalmente, pois no sistema industrializado do setor leiteiro os bezerros são separados das mães logo após o nascimento, e a interrupção da produção de leite é realizada através de diferentes métodos de secagem (ZOBEL et al., 2015).

## 2.5 ESTRATÉGIAS DE SECAGEM

### 2.5.1 Frequência De Ordenha, Interferência Hormonal e Manejo Alimentar

Frequência de ordenha refere-se ao número de ordenhas em um período de 24 horas, a qual pode ser alterada para modular a produção de leite de vacas na secagem. O efeito da frequência é mediado pelos mecanismos regulatórios do úbere. Quando ocorre um

aumento da frequência de ordenha a produção de leite é aumentada, e o contrário acontece quando a frequência de ordenha é reduzida (COLLIER; ANNEN-DAWSON; PEZESHKI, 2012). A secagem abrupta é realizada em um dia programado de acordo com a data prevista para o parto e a secagem gradual as vacas são submetidas a variações na frequência de ordenha diária e em dias alternados, durante uma ou duas semanas antes da secagem definitiva (BIRGEL et al., 2009).

Em grande parte dos rebanhos comerciais o manejo de secagem abrupta, associado ao uso de antibióticos para prevenção de infecções intramamárias, é uma preocupação de bem-estar para vacas leiteiras, bem como o risco aumentado de infecções na glândula mamária. Bertulat et al. (2013) avaliaram o efeito da secagem abrupta sobre a pressão do úbere e encontraram que as pressões foram maiores em vacas de alta produtividade e menores em vacas de baixa produção. Zobel et al. (2013) compararam os efeitos da interrupção abrupta ou gradual sobre o vazamento de leite e o comportamento da vaca leiteira. As vacas que receberam o tratamento de secagem gradual realizada em cinco dias permaneceram menos tempo deitadas, aumentaram o tempo de alimentação e diminuíram a produção de leite durante a secagem. Além disso, verificaram que realizando a redução gradual de ordenha em vacas de alta produção, o vazamento de leite depois da secagem foi reduzido.

Gott et al. (2015) avaliaram o efeito da frequência de ordenha reduzida gradualmente e redução abrupta sobre a produção de leite, vazamento de leite e infecções intramamárias após o parto. Com a frequência de ordenha gradual, as vacas diminuíram a produção de leite em 33,4 % durante a última semana de lactação em que foi realizada a secagem. O risco de infecções intramamárias ao parto e vazamento de leite pós-secagem, foi aumentado para as vacas primíparas que receberam interrupção abrupta de ordenha e para as múltíparas que apresentaram infecções intramamárias durante realização de frequência de ordenha reduzida gradualmente. Estes autores indicam que devem ser aplicadas diferentes práticas de secagem, levando em consideração a paridade e produção de leite das vacas para melhorar a saúde da glândula mamária do rebanho.

A prática de reduzir a frequência de ordenha tem como objetivo reduzir custos com mão de obra e disponibilizar um período do dia para folga dos funcionários. Diversos estudos foram realizados para avaliar o impacto desta prática no bem-estar das vacas leiteiras, pelo fato de gerar complicações como o desconforto e dor do úbere no início da lactação (O'Driscoll et al., 2010). Procurando responder a esses questionamentos O'Driscoll et al. (2011) investigaram como a alteração na frequência de ordenha pode afetar o conforto das

vacas leiteiras. Neste estudo a redução da frequência de ordenha no meio da lactação para uma vez ao dia ou exclusão da ordenha uma vez por semana, apresentou pouca probabilidade de ser um problema significativo para o bem-estar das vacas, pois em ambos os estudos as mudanças comportamentais e a pressão no úbere foram transitórias. Deste modo, a utilização de redução gradual de ordenha para secagem pode ser uma alternativa que apresente melhores resultados ao bem-estar desses animais.

A ordenha realizada uma vez ao dia desencadeia imediata redução na produção de leite de vacas. Trabalhos internacionais de curta duração, realizados com vacas de diferentes estágios de lactação, paridade e raças, obtiveram redução média na produção de leite de 22%, quando foi utilizada a estratégia de reduzir o número de ordenhas diárias (PHYN et al., 2010). As pesquisas relatadas a seguir foram realizadas para medir os efeitos da redução na frequência de ordenha sobre os parâmetros comportamentais e bem-estar de vacas leiteiras. Gleeson et al. (2007) sugeriu que reduzindo a energia das dietas associada com uma ordenha no dia reduziria o vazamento de leite. Tucker et al. (2007) não encontrou alteração no tempo das vacas em repouso como forma de evitar a pressão corporal sobre a glândula mamária. E O'Driscoll et al. (2012) avaliaram a realização de uma ordenha diária sobre o conforto de vacas no meio da lactação. Estes autores observaram pouco efeito sobre o conforto mesmo com aumento de vazamento de leite e firmeza do úbere, pois as vacas se adaptaram rapidamente na primeira semana da troca no manejo de ordenha.

A interferência da secreção de leite através de sinais hormonais é utilizada em vacas de alta produção como estratégia de secagem. Ponchon et al. (2014) avaliaram o uso de infusões intramamárias de hidrolisados de caseínas para reduzir a secreção de leite na secagem, e encontraram resultados eficazes da caseína para acelerar a regressão da glândula mamária. Outras pesquisas avaliam a administração de uma única dose intramuscular de cabergolina como facilitador de secagem. A cabergolina é um fármaco agonista dopaminérgico, derivado do fungo *ergot* e presente no centeio e outros cereais. Possui elevada afinidade para os receptores de dopamina D2, os quais são responsáveis por causar a inibição da secreção do hormônio prolactina (ROMAGNOLI et al., 2009).

Bach, De-Prado e Aris (2015) testaram os efeitos da cabergolina sobre o ingurgitamento do úbere, vazamento do leite e comportamento de repouso de 109 vacas leiteiras da raça Holandesa com produção de  $\geq 18$  kg/dia. Os animais de cada grupo receberam 5 mL injetável de cabergolina (CAB; Velactis, Ceva Santé Animal, Libourne, França) ou 5 mL de solução salina como um placebo. Os autores deste trabalho concluíram que o uso de cabergolina foi eficaz na redução da secreção da prolactina, causando uma

redução do ingurgitamento durante o primeiro dia de secagem. Houve redução no vazamento do leite nas primeiras semanas pós-secagem, e o tempo de repouso no primeiro dia após a secagem aumentou 90 minutos, ou seja, favoreceu o bem-estar desses animais. Boutinaud et al. (2015) avaliaram o efeito da cabergolina sobre a inibição da prolactina e involução da glândula mamária e também concluíram que o uso deste fármaco facilita a secagem e acelera a involução da glândula mamária.

Lacasse et al. (2015) descreveram a importância do hormônio prolactina em ruminantes leiteiros e seu uso na secagem de vacas, que possibilita manter e/ou suspender a lactação. Estes autores revisaram trabalhos com pesquisas referentes ao efeito da prolactina na produção de leite, no consumo de ração e como estratégia de secagem. Os resultados encontrados indicaram que a inibição da prolactina pode ser uma alternativa para planejar a secagem e reduzir o estresse metabólico de vacas de alta produção. No entanto, há necessidade de estudos relacionados ao uso desses fármacos sobre os efeitos em longo prazo nos animais.

Além do manejo de frequência de ordenha e uso de fármacos para interferir a secreção da prolactina na secagem, uma das estratégias utilizadas é a restrição alimentar das vacas. Embora possa facilitar a redução da produção de leite, a redução drástica de alimentos para vacas com elevado rendimento pode gerar grave estresse metabólico e ainda pode induzir a maiores níveis de cortisol, ácidos graxos não esterificados (NEFA) no plasma, e problemas de saúde como a mastite (ODENSTEN; HOLTENIUS; PERSSON-WALLER, 2007). Como por exemplo, no estudo de Odensten, Chilliard e Holtenius (2005) foi fornecido palha *ad libitum* para vacas que estavam no processo de secagem, os resultados relatados foram a diminuição nas concentrações de ácidos graxos voláteis no rúmen, aumento de pH ruminal e alterações no metabolismo do plasma durante a secagem.

O risco de uma vaca desenvolver infecções intramamárias no período seco pode ser revertido com a redução da produção de leite antes da secagem. É importante que a produção seja rapidamente inibida para evitar o vazamento do leite e assim alcançar a saúde do úbere (DINGWELL et al., 2004). Ollier, Zhao e Lacasse (2014) avaliaram os efeitos da restrição alimentar e a inibição da prolactina na secagem sobre o metabolismo e a regressão da glândula mamária de vacas leiteiras. A restrição alimentar realizada com fornecimento de feno e 4 mg de quinagolido (inibidor específico de prolactina) durante cinco dias antecedentes à secagem, reduziram a produção de leite. Para estes autores, a inibição da prolactina pode ser uma alternativa para acelerar o processo de regressão da glândula mamária sem afetar o metabolismo da vaca. Ollier, Zhao e Lacasse (2015) defendem a hipótese de que, o ganho de

resistência a doenças da glândula mamária através da redução de leite na secagem, obtida por meio da restrição alimentar, pode ser perdido por imunossupressão, pois a inibição da prolactina foi a única a reduzir a susceptibilidade da contaminação por *Streptococcus agalactiae* na glândula mamária neste estudo.

Tucker, Lacy-Hulbert e Webster (2009) avaliaram os efeitos de dois procedimentos comuns no manejo de secagem, a restrição alimentar e redução da frequência de ordenha, sobre as características comportamentais e saúde do úbere antes da secagem e no período seco. Ao se tratar da restrição alimentar, vacas que receberam 8 kg de MS/dia apresentaram menor vazamento de leite, despenderam menos tempo comendo e mais tempo deitadas, quando comparadas ao fornecimento de 16 kg de MS/dia. A frequência de ordenha teve pouco efeito sobre o comportamento deitado e firmeza do úbere antes e após a interrupção da ordenha. Os resultados encontrados para este trabalho sugeriram que a restrição alimentar de 8 kg de MS/d pode causar fome, o que seria indesejável para as vacas durante o processo de secagem. Segundo estes autores são necessárias pesquisas que forneçam alimentos *ad libitum* para avaliar o estado afetivo de fome desses animais no processo de secagem.

Bertulat et al. (2014) realizaram um levantamento sobre as práticas de secagem nas fazendas leiteiras do Norte da Alemanha. Foram entrevistados 370 fazendeiros com um questionário *online*, que continha questões fechadas sobre manejo de vaca em final da lactação, manejo de secagem, período seco e preocupações com comportamento e bem-estar de vacas nesse período. Os resultados obtidos desta pesquisa foram que apenas 9,9% das fazendas realizavam período seco de cinco semanas ou menos, 73% realizavam secagem abrupta e 15 % reduziam a produção de leite antes da secagem, através de estratégias como reduzir a frequência de ordenha e ajustar as rações. Os fármacos eram utilizados em 79,6 % das fazendas para prevenção e tratamento de infecções intramamárias em vacas secas. Com relação às questões sobre indicativos de comportamentos e estresse das vacas na secagem, a maioria dos fazendeiros observaram aumento na frequência de vocalização, inquietação, lambidas no úbere, comportamento agressivo e aumento do tempo em pé. Além disso, observaram redução no consumo de alimentos e pelo menos um comportamento relacionado ao estresse foi citado. Com esta pesquisa os autores concluíram que as recomendações feitas por pesquisadores são conhecidas pelos produtores de leite e aplicadas na rotina diária das fazendas, porém ainda faltam esclarecimentos sobre qual manejo de secagem é ideal para ser adotado.

### 2.5.2 A Utilização do Feno Como Estratégia De Secagem

Outra forma de reduzir a produção do leite é limitar a densidade de energia nas dietas, e a utilização do feno pode facilitar essa estratégia de secagem, devido aos seus baixos valores energéticos. No entanto, deve manter atenção quanto ao tipo e composição nutricional do feno fornecido. De acordo com Van Soest (1994) o consumo e a digestibilidade das diferentes frações da forragem estão ligados à idade da planta, pois à medida que avança o estágio de desenvolvimento das forrageiras, os teores de matéria seca e parede celular serão maiores, e conseqüentemente a proteína e energia estarão menos disponíveis. Dessa forma, os cortes das plantas forrageiras devem ser precoces para preservar a digestibilidade, a disponibilidade dos nutrientes, a ingestão de matéria seca e o desempenho animal.

Dentre os procedimentos para secagem, a combinação da redução de frequência de ordenha e rações de baixa energia foram avaliadas por Valizahh et al. (2008), com o objetivo de investigar os efeitos da alimentação com feno de aveia e de capim festuca no declínio da produção de leite e as respostas comportamentais de vacas na secagem. Apesar da redução da produção de leite antes da secagem ter oferecido benefícios à saúde do úbere, a redução do teor energético da dieta e da frequência de ordenha podem ter causado efeitos negativos sobre o bem-estar de vacas leiteiras. O aumento de vocalização neste estudo sugeriu que com o fornecimento do feno de aveia as vacas podem não ter consumido nutrientes suficientes para garantir a saciedade, indicando a ocorrência de fome com efeito negativo em seu bem-estar. Com este trabalho podemos observar a importância da escolha adequada do tipo de feno a ser fornecido aos bovinos leiteiros em final de lactação, para garantir as exigências nutricionais sem haver efeitos negativos no metabolismo e bem-estar.

O feno é definido como a forragem que passou pelo processo de desidratação até atingir o teor de umidade em torno de 15%, e a sua qualidade está associada a fatores relacionados às plantas, condições ocorrentes durante a desidratação e ao tipo de armazenamento (CAVALCANTE et al., 2004). A desidratação do feno ocorre em três etapas. Após o corte as plantas continuam com os estômatos abertos e por meio do alto déficit de pressão de vapor entre a forragem e o ar, há uma rápida perda de água em torno de 20 a 30% (ENVANGELISTA; REIS; MORAIS, 2011). Uma hora após o corte os estômatos se fecham e a perda de água é via evaporação cuticular de forma mais lenta. Quando a planta apresenta 45% de umidade inicia-se a plasmólise, ou seja, a membrana celular perde a permeabilidade seletiva, e nessa etapa final ocorre rápida perda de água (MCDONALD; CLARCK, 1987).

O processo de fenação consiste na conservação do valor nutritivo da forragem por meio da rápida desidratação, a qual ocorre em função da paralisação da atividade respiratória das plantas e dos microrganismos evitando assim a deterioração da forragem. O processo é realizado por meio de operações mecânicas e inicia-se com o corte da forrageira, viragem e enleiramento, enfardamento e logo em seguida o feno é destinado ao armazenamento (CALIXTO JÚNIOR; JOBIM; CANTO, 2007).

As plantas destinadas a produção do feno tem diferentes morfologias e isso demanda diferentes alturas de corte. As do gênero *Cynodon* e *Brachiaria* podem ser cortadas com 10 a 15 cm de altura, *Panicum* e *Avena* 20 a 30 cm e as leguminosas de 8 a 10 cm do nível do solo. As segadeiras condicionadoras são as mais indicadas para realizar o corte das forrageiras, pois promovem o esmagamento do caule o que acelera a taxa de secagem. O corte deve ser realizado em dias ensolarados no período da manhã, logo após a evaporação do orvalho. Para acelerar e uniformizar a secagem da forrageira é necessário a viragem até duas vezes ao dia, e o enleirar antes do anoitecer quando a planta apresenta baixa umidade. No dia seguinte a forragem deve ser desenleirada para finalizar o processo de secagem e quando atingir 15% de umidade inicia-se o enfardamento e armazenamento (REIS; MOREIRA; PEDREIRA, 2001).

As gramíneas tropicais do gênero *Cynodon* são de origem africana possuem alto valor nutritivo e alta produtividade. As espécies do gênero *Cynodon plectostachyus* e *Cynodon nlemfuensis* não apresentam rizomas ao contrario de *Cynodon dactylon*, que têm como característica a presença de rizomas subterrâneos e são destaques na alimentação animal em forma de pasto e feno (OLIVEIRA et al., 2014). Como por exemplo, o capim Tifton 85 (*Cynodon dactylon*) que surgiu do cruzamento da gramínea sul africana (PI 290884) com o Tifton 68 bastante utilizadas para produção de feno (TAFFAREL et al., 2014), e a cultivar Vaquero (*Cynodon dactylon*), oriundo do melhoramento dos capins conhecidos como Pyramid e Mirage comercializados para jardins e o CD 90160 um genótipo próprio para produção de forragem, propagada por sementes. Essa cultivar foi estudada nos Estados Unidos e introduzida recentemente no Brasil, e as informações que relatam rendimentos nas condições brasileiras ainda são escassas (ANDRADE et al., 2012).

De acordo com Jobim et al. (2001) para se produzir feno de boa qualidade é importante a escolha de gramíneas com alto valor nutritivo e características adequadas para fenação, principalmente a facilidade de desidratação que está relacionada com a morfologia da planta, condições climáticas e manejo. E as cultivares do gênero *Cynodon* apresentam essas características como: alto valor nutritivo (11 a 13% PB), elevada produção de matéria

seca (20 a 25 t/ha/ano), boa relação folha/colmo, rápida taxa de crescimento e desidratação, e ampla adaptação a diferentes condições edafoclimáticas.

Porém, apenas a escolha da gramínea não irá contribuir para a qualidade nutricional do feno. As etapas desde o plantio até a colheita são importantes para o processo de fenação. As forragens conservadas como o feno podem apresentar alteração do valor nutricional em razão dos procedimentos de produção, conservação e dos fenômenos bioquímicos e microbiológicos que ocorrem durante o processo. As alterações que podem ocorrer durante as fases de secagem, recolhimento e armazenamento do feno, influenciam na composição química, ingestão e digestibilidade da forragem. Uma forragem deve ser cultivada em boas condições de fertilidade, manejo e colhida com uma perda mínima de nutrientes (JOBIM et al., 2007).

A alternativa de conservar alimentos nas estações de inverno e outono possibilita garantia de alimentação animal para suprir em parte as deficiências qualitativas e quantitativas observadas nesta época. O feno quando produzido de forma adequada permite longos períodos de armazenamento, pequenas alterações no valor nutritivo, pode utilizar diferentes espécies de forrageiras e oferecer aporte nutricional para diferentes categorias animais (REIS; MOREIRA; PEDREIRA, 2001). De acordo com Aguiar et al. (2006) o feno desempenha também um papel importante no manejo das pastagens por permitir a utilização do excedente das forragens em períodos de crescimento acelerado ou até mesmo por variações na carga animal.

A produção de feno no Brasil vem crescendo em função da conscientização dos produtores sobre a importância da suplementação volumosa nos períodos de escassez forrageira e por apresentar vantagens de ser comercializável, servir de fonte de renda para muitos produtores e não se deteriorar no fornecimento. Na atividade leiteira, por exemplo, o feno é fornecido para bezerras, novilhas e vacas em lactação como volumoso ministrado junto com a silagem e o concentrado, a fim de atender as quantidades mínimas de fibra exigidas na ração total (NERES; AMES, 2014). Pode ainda ser fornecido para vacas secas, as quais recebem uma dieta volumosa de baixa densidade energética o que resulta na diminuição de tamanho das papilas ruminais e na área de absorção dos ácidos graxos voláteis (NRC, 2001). A alimentação com o feno de boa qualidade desde o processo de secagem até os 21 dias anteriores à data prevista do parto, pode favorecer o descanso das papilas ruminais e ajudar na manutenção das reservas proteicas do animal, devido aos valores baixos de energia e consideráveis teores de proteína. Deste modo, observa-se que nos sistemas de produção

leiteira a utilização do feno é constante e de fácil acesso, o que possibilita também o uso no manejo de secagem.

Embora este assunto seja bem complexo e gere várias discussões no meio científico, ainda há escassez de informações relacionadas ao manejo ideal de secagem. Por isso observa-se essa heterogeneidade de métodos aplicados pelos produtores nos diferentes países. Alguns estudos expostos nesta revisão, já demonstram a preocupação sobre o bem-estar dos animais nesse período. Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi pesquisar o uso do feno na alimentação das vacas na secagem sobre as respostas comportamentais e de bem-estar de vacas leiteiras.

## REFERÊNCIAS

ABADE, C. C. et al. Dairy cow preference and usage of an alternative free stall design. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.960–965, dez. 2014.

AGUIAR, E.M. et al. Rendimento e composição químico bromatológica de fenos de triturados de gramíneas tropicais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, n.6, p.2226-2233, 2006.

ANDERSEN, J. B. et al. The effects of dry period versus continuous lactation on metabolic status and performance in periparturient cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 3530-3541, out. 2005.

ANDREASEN, N.S.; FORKMAN, B. The welfare of dairy cows is improved in relation to cleanliness and integument alterations on the hocks and lameness when sand is used as stall surface. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.4961-4967, set. 2012.

ANNEN, E. L. et al. Effect of modified dry period lengths and bovine somatotropin on yield and composition of milk from dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 3746-3761, nov. 2004.

ATASHI H.; ZAMIRI M. J.; DADPASAND, M. Association between dry period length and lactation performance, lactation curve, calf birth weight, and dystocia in Holstein dairy cows in Iran. **Journal of Dairy Science**, v.96, p. 3632-3638, jun. 2013.

BACH, A.; DE-PRADO, A.; ARIS, A. Short communication: The effects of cabergoline administration at dry-off of lactating cows on udder engorgement, milk leakages, and lying behavior. **Journal of Dairy Science**, v.98, n. 10, p. 7097-7101, out. 2015.

BRAMBELL, F. W. R. Report of the **Technical Committee to Enquire into the Welfare of Animals kept under intensive Livestock Husbandry System**. Command Paper 2836, London: HSMO, 1965.

BERTULAT, S. et al. Measurement of fecal glucocorticoid metabolites and evaluation of udder characteristics to estimate stress after sudden dry-off in dairy cows with different milk yields. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 3774-3787, jun. 2013.

BERTULAT, S. et al. A survey of drying-off practices on commercial dairy farms in northern Germany and a comparison to science-based recommendations. **Veterinary Record Open**, v.2, fev. 2014.

BREUER, K. et al. Behavioral response to humans and the productivity of commercial dairy cows. **Applied Animal Behavior Science**, v. 66, p. 273-288, mar. 2000.

BIRGEL, B. D. et al. Processo de secagem da glândula mamária de bovinos da raça Holandesa: avaliação física da regressão da mama e das características físico-químicas, celulares e microbiológicas da secreção láctea durante o período seco. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 4, p. 517-522, out/dez. 2009.

BOUTINAUD et al. Cabergoline inhibits prolactin secretion and accelerates involution in dairy cows after dry-off. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 7, p. 5707-5718, jul. 2015.

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

BROOM, D. M. Behavior and welfare in relation to pathology. **Applied Animal Behavior Science**, v. 97, p. 73-83, mar. 2006.

BROOM, D. M.; MOLENTO, C. F. M. Animal welfare: concept and related issues—review. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, p. 1-11, 2004.

CALIXTO JUNIOR, M.; JOBIM, C.C.; CANTO, M. W. Taxa de desidratação e composição químico - bromatológica do feno de grama-estrela (*Cynodon nlemfuensis Vandyerst*) em função de níveis de adubação nitrogenada. **Sêmima: Ciências Agrárias**, v.28, p.493-502, jul./set. 2007.

CAVALCANTE, R. C. A. et al. Dietas contendo silagem de milho (*Zea maiz L.*) e feno de capim Tifton 85 (*Cynodon spp.*) em diferentes proporções para bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p.2394-2402, 2004.

CERQUEIRA, L. Joaquim et al. Alguns indicadores de avaliação de bem-estar em vacas leiteiras – revisão. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 106, p. 577-580, 2011.

CERQUEIRA, J. L. et al. Alguns indicadores de avaliação de bem-estar em vacas leiteiras. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 106, p. 577-580, 2012.

COLLIER, R. J.; ANNEN-DAWSON, E. L.; PEZESHKI, A. Effects of continuous lactation and short dry periods on mammary function and health. **Animal**, v.6, p. 403-414, mar. 2012.

CUNINGHAM, J. G. A glândula mamária. **Tratado de fisiologia Veterinária**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p. 417-431.

DAWKINS, M.S. Evolution and animal welfare. **Quarterly review of biology** v. 73, p. 305–328, set.1998.

DAWKINS, M. S. Using behavior to assess animal welfare. **Animal Welfare**, v. 13, p. 83-87, 2004.

DECHAMPS, P. et al. A note on resting behavior of cows before and after calving in two different housing systems. **Applied Animal Behavior Science**, v. 23, p. 99-105, out. 1989.

DINGWELL, R. T. et al. Association of cow and quarter-level factors at drying-off with new intra-mammary infections during the dry period. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 63, p. 75-89, abr. 2004.

D'EATH, B. R. et al. 'Freedom from hunger' and preventing obesity: The animal welfare implications of reducing food quantity or quality. **Animal Behavior**, v.77, p. 275-288, fev. 2009.

DUNCAN, I. J. H. Animal welfare in terms of feelings. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section A, Animal Science**, v. 27, p. 29-35, 1996.

EVANGELISTA, A. R.; REIS, R. A.; MORAES, G. Fatores limitantes para adoção da tecnologia de fenação em diferentes sistemas de produção animal. In: Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas. **Anais...** p. 271-292, 2011.

FAWC. **Farm Animal Welfare Council**. Disponível em: <<http://www.fawc.org.uk/freedoms.htm>>. 2009. Acesso em 06 de outubro de 2015.

FAWC. **Farm Animal Welfare Council**. Disponível em: <<http://www.fawc.org.uk/freedoms.htm>>. 2003. Acesso em 06 de outubro de 2015.

FRASER, D. Science, values and animal welfare: exploring the 'inextricable connection'. **Animal Welfare**, v. 4, p. 103-117, 1995.

FRASER, D. Assessing animal welfare at the farm and group level: The interplay of science and values. **Animal Welfare**, v. 12, p. 433-443, 2003.

FRASER, D. **Understanding Animal Welfare: The Science in Its Cultural Context**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2008.

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

FRASER, D.; BROOM, D. M. **Compreendendo o Bem-estar animal – A ciência no seu contexto cultural**. Tradução de Fregonesi, J. A. – Londrina: Eduel, 2012, 436 p.

FRANDSON, R. D.; WILKE, W.L.; FAILS, A. D. Anatomia e fisiologia das glândulas mamárias. In. **Anatomia e fisiologia dos animais de fazenda**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. P. 399-410.

FREGONESI, A. J. et al. Effects of bedding quality on lying behavior of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 5468-5472, dez. 2007.

FREGONESI, A. J.; VON KEYSERLINGK, A. G. M.; WEARY, M. D. Cow preference and usage of free stalls compared with an open pack area. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 5497-5502, nov. 2009.

GLEESON, D. E. Effect of milking frequency and nutritional level on aspects of the health and welfare of dairy cows. **Animal**, v.1, n. 1, p. 125-132, fev. 2007.

GOLDER, M. H.; HODGE, A.; LEAN, J. Effects of antibiotic dry-cow therapy and internal teat sealant on milk somatic cell counts and clinical and subclinical mastitis in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 9, p. 7370-7380, set. 2016.

GOTT, N. P. et al. Intramammary infections and milk leakage following gradual or abrupt cessation of milking. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 5, p. 4005-4017, maio. 2015.

HALASA, T. Meta-analysis of dry cow management for dairy cattle. Part 1. Protection against new intramammary infections. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 3134-3149, jul. 2009.

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

- HEMSWORTH, P.H. et al. Relationships between human-animal interactions and productivity of commercial dairy cows. **Journal of dairy Science**, v. 78, p. 2821-2831, nov. 2000.
- JOBIM, C. C. et al. Desidratação de cultivares de *Cynodon spp.* durante o processo de fenação. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 4, p. 795-799, 2001
- JOBIM, C.C. et al. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.101-119, 2007.
- KARGAR, S. et al. Performance, bioenergetic status, and indicators of oxidative stress of environmentally heat-loaded Holstein cows in response to diets inducing milk fat depression. **Journal of Dairy Science**, v.98, n. 7, p. 4772-4784, jul. 2015.
- KUHN, M. T.; HUTCHISON, J. L.; LAWRENCE, H. D. Characterization of days dry for United States Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v.88, p. 1147-1155, mar. 2005.
- LACASSE, P. et al. New insights into the importance of prolactin in dairy ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 1, p. 864-874, jan. 2015.
- LANGE-CONSIGLIO, A. et al. Intramammary administration of platelet concentrate as an unconventional therapy in bovine mastitis: first clinical application. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 10, p. 6223-6230, out. 2014.
- LÓPEZ, S. et al. On the analysis of Canadian Holstein dairy cow lactation curves using standard growth functions. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 4, p. 2701-27012, abr. 2015.
- Mc DONALD, A.D.; CLARK, E.A. Water and quality loss during field drying of hay. **Advances in Agronomy**, v.41, p.407-437, 1987.
- MACUHOVÁ, J. et al. Inhibition of oxytocin release during repeated milking in unfamiliar surroundings: the importance of opioids and adrenal cortex sensitivity. **Journal of Dairy Research**, v.69, p. 63-73, fev. 2002.
- MADSEN, T.G. et al. Continuous lactation in dairy cows: effect on milk production and mammary nutrient supply and extraction. **Journal of Dairy Science**. v. 91, p.1791-1801, maio. 2008.

MARCHANT-FORDE, N.J.; MARCHANT-FORDE, M. R.; WEARY, M. D. Responses of dairy cows and calves to each other's vocalization after early separation. **Applied Animal Behavior Science**, v.78, p. 19-28, ago. 2002.

MARQUES, J. A.; PINTO, P. A.; ABRAHÃO, S. J. J.; NASCIMENTO, G. W. Intervalo de tempo entre observações para avaliação do comportamento ingestivo de tourinhos em confinamento. **Sêmima: Ciências Agrárias**, v. 29, p. 955-960, out/dez. 2008.

MANTEUFFEL, G.; PUPPE, B.; SCHÖN, C.P. Vocalization of farm animals as a measure of welfare. **Applied Animal Behavior Science**, v. 88, p. 163-182, set. 2004.

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

MEDRANO-GALARZA, C. J. et al. Behavioral changes in dairy cows with mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 6994-7002, dez. 2012.

MOBERG, P. G. Suffering from stress: An approach for evaluating the welfare of an animal. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section A, Animal Science**, p. 46-49. 1996.

MOBERG, P.G. Biological response to stress: Implications for animal welfare. In: G. P. MOBERG and J. A. Mench. **The biology of animal stress: Basic principles and implications for animal welfare**. Wallingford, UK: CAB International. 2000.

NERES, A. M.; AMES, P. J. Novos aspectos relacionados à produção de feno no Brasil. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 14, n. 1, p. 10-17, 2014.

NEWMAN, K. A. et al. Association of milk yield and infection status at dry-off with intramammary infections at subsequent calving. **Journal Dairy Research**, v. 77, p. 99-106, fev. 2010.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington: National Academy Press, 2001.

ODENSTEN, O. M.; CHILLIARD, Y.; HOLTENIUS, K. Effects of two different feeding strategies during dry-off on metabolism in high-yielding dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.88, n. 6, p. 2072-2082, jun. 2005.

ODENSTEN, O. M. et al. Metabolism and udder health at dry-off in cows of different breeds and production levels. **Journal of Dairy Science**, v.90, n. p. 1417-1428, mar. 2007.

ODENSTEN, O. M.; HOLTENIUS, K.; PERSSON-WALLER, K. Effects of two different feeding strategies during dry off on certain health aspects of dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 90, p. 898-907, jun. 2007.

O'DRISCOLL, K. et al. Milking frequency and nutritional level affect grazing behavior of dairy cows: a case study. **Applied Animal Behavior Science**, v.122, p.77-83, jan. 2010.

O'DRISCOLL, K. et al. Does omission of a regular milking event affect cow comfort? **Livestock Science**, v. 138, p. 132-143, jun. 2011.

ODRISCOLL, K. et al. A reduction in milking frequency and feed allowance improves dairy cow immune status. **Journal of Dairy Science**, v.95, n. 3, p. 1177-1187, mar. 2012.

OLLIER, S.; ZHAO, X.; LACASSE, P. Effects of feed restriction and prolactin-release inhibition at drying off on metabolism and mammary gland involution in cows. **Journal of Dairy Science**, v.97, p. 4942-4954, jun. 2014.

OLLIER, S.; ZHAO, X.; LACASSE, P. Effects of feed restriction and prolactin-release inhibition at drying-off on susceptibility to new intramammary infection in cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 1, p. 221-228, jan. 2015.

OLIVEIRA, E.R. et al. Degradação ruminal da biomassa de fenos de gramíneas do gênero *Cynodon* spp. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 2, n. 37, p. 214-220, jun. 2014.

ÖSTERMAN, S.; I. REDBO. Effects of milking frequency on lying down and getting up behavior in dairy cows. **Applied Animal Behavior Science**, v.70, p. 167-176, 2001.

PEZESHKI, A. et al. Effects of short dry periods on performance and metabolic status in Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.5531-5541, dez. 2007.

PHYN, C. V. C. et al. Review: Impact of short-term alterations to milking frequency in early lactation. In: 4th Australasian Dairy Science Symposia. 2010. New Zealand. **Anais...** 2010. p.156-164.

PONCHON, B. P. et al. Effects of intramammary infusions of casein hydrolysate, ethylene glycol-bis ( $\beta$ -aminoethyl ether) - N,N,N',N'- tetraacetic acid, and lactose at drying-off on mammary gland involution. **Journal Dairy of Science**. v. 97, n. 2, p. 779-788, fev. 2014.

REIS, A. R.; MOREIRA, A. L.; PEDREIRA, M. S. Técnicas para produção e conservação de fenos de forrageiras de alta qualidade. In: Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas, 2001, Maringá. **Anais...** 2001. p.319.

ROMAGNOLI, S. C. et al. Effect of an injectable cabergoline formulation on serum prolactin (PRL) and milk secretion in early postpartum beagle bitches. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 44, p.148-151, jul. 2009.

RUSHEN, J. Opioid peptides and behavioural and physiological responses of dairy cows to social isolation in unfamiliar surroundings. **Journal Animal Science**, v.77, p. 2918-2924, nov. 1999.

RUSHEN, J.; HALEY, D.; PASSILLÉ, A. M. Effect of softer flooring in tie stalls on resting behavior and leg injuries of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 3647-3651, agos. 2007.

SANTSCHI, D. E.; LEFEBVRE, D. M. Practical concepts on short dry period management. **Canadian Journal of Animal Science**, v.94, p. 381-390, abr. 2014.

SEJRSEN, K.; HUBER, J. T.; TUCKER, H. A.; AKERS, R. M. Influence of nutrition on mammary development in pre- and postpubertal heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 65, p. 793-800, 1982.

SILANIKOVE, N. et al. Early mammary gland metabolic and immune responses during natural-like and forceful drying-off in high-yielding dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.96, p. 6400-6411, out. 2013.

SILVA, R. R. et al. Comportamento ingestivo diurno de novilhos Nelore recebendo níveis crescentes de suplementação em pastejo de capim braquiária. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 2073-2080, set. 2010.

SILVA, R. R. et al. Comportamento ingestivo de bovinos. Aspectos metodológicos. **Archivos de Zootecnia**, v. 55, p. 293-296, set. 2006.

SILVA, R. R. et al. Efeito da ração farelada e peletizada sobre o comportamento ingestivo de bezerros Holandeses. **Archivos de Zootecnia**, v. 56, p. 227-238.2007.

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

STELWAGEN, K. Effect of milking frequency on mammary functioning and shape of the lactation curve. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 204-211, jun. 2001.

STEENEVELD, W. Effect of different dry period lengths on milk production and somatic cell count in subsequent lactations in commercial Dutch dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 2988-3001, maio, 2013.

SMITH, K.L.; TODHUNTER, D. A. **The physiology of mammary glands during the dry period and the relationship to infection**. In: Annual Meeting of National Mastitis Council, 21, 1982, Louisville, 1982. p. 87-100.

SØRENSEN, T. J.; ØSTERGAARD, S.; BENNEDSGAARD, W. T. Reduction of dry period and its effect on incidence of mastitis of high production cows. **Anais... IV Simleite**. 2015.

SWANSON, C. J. Farm animals, well-being and intensive production systems. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 2744-2751, out. 1995.

SEPÚLVEDA-VARAS, P. et al. Changes in behavior of dairy cows with clinical mastitis. **Applied Animal Behavior Science**, v.175, p. 8-13, fev. 2016.

TAFFAREL, E. L. et al. Produção de matéria seca e valor nutritivo do feno do tifton 85 adubado com nitrogênio e colhido com 35 dias. **Revista Brasileira de Saúde Produção Animal**, Salvador, v. 15, n. 3, p. 544-560, jul./set. 2014.

TUCKER, H. A. Quantitative estimates of mammary growth during various physiological states: a review. **Journal of Dairy Science**, v.70, p. 1958-1966. 1987.

TUCKER, C. B.; WEARY, M. D.; 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, fev. 2003.

TUCKER, C. B. et al. Milking cows once daily influences behavior and udder firmness at peak and mid lactation. **Journal of Dairy Science**, v.90, n. 4, p. 1692-1703, abr. 2007.

TUCKER, C. B.; LACY-HULBERT, S. J.; WEBSTER J. R. Effect of milking frequency and feeding level before and after dry off on dairy cattle behavior and udder characteristics. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 3194-3203, jul. 2009.

VALIZAHEH, R.; VEIRA, M. D.; VON KEYSERLINGK, G. A. M. Behavioral responses by dairy cows provided two hays of contrasting quality at dry-off. **Applied Animal Behavior Science**, v. 109, p. 190-200, fev. 2008.

VAN HOEIJ, J. R. et al. Cow characteristics and their association with udder health after different dry period lengths. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n.10, out. 2016.

VAN REENEN, C. G. et al. Individual differences in behavioral and physiological responsiveness of primiparous dairy cows to machine milking. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 10, p. 2551-2561, out. 2002.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476 p.

VITALE, A. F. Social behavior of the calves of semi-wild Maremma cattle, *Bos primigenius taurus*. **Applied Animal Behavior Science**, v. 16, p. 217-231, nov. 1986.

VON KEYSERLINGK, A. M. et al. Invited review: The welfare of dairy cattle - Key concepts and the role of science. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 4101-4111, set. 2009.

WATTERS, R. D. et al. Effects of dry period length on milk production and health of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**. v. 91, p. 2595-2603, jul. 2008.

WATTS, M. J.; STOOKEY, M. J. Effects of restraint and branding on rates and acoustic parameters of vocalization in beef cattle. **Applied Animal Science**, v.62, p. 125-135, fev. 1999.

WATTS, M. J.; STOOKEY, M. J. Vocal behavior in cattle: The animal's commentary on its biological processes and welfare. **Applied Animal Behavior Science**, v. 67, p.15-33, fev. 2000.

WATTS, M. J. et al. Variability in vocal and behavioral responses to visual isolation between full-sibling families of beef calves. **Applied Animal Behavior Science**, v. 70, p. 255-273, jan. 2001.

WEARY, M. D.; FRASER, D. Signaling need: costly signals and animal welfare assessment. **Applied Animal Behavior Science**, v. 44, p. 159-169, set. 1995.

WEARY M. D.; HUZZEY J. M.; VON KEYSERLINGK A. M. G. Board-invited review: Using behavior to predict and identify ill health in animals. **Journal Animal Science**, v. 87, p. 770-777, 2009.

WILDE J. C. et al. Autocrine regulation of milk secretion by a protein in milk. **Biochem Journal**, v. 305, p. 51-58, 1995.

WILDE J. C. et al. Mammary apoptosis. **Livestock Production Science**, v. 50, p. 29-37, dez. 1997.

ZOBEL, G. et al. Gradual cessation of milking reduces milk leakage and motivation to be milked in dairy cows at dry-off. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 8, ago. 2013.

ZOBEL, G. et al. Invited review: Cessation of lactation: Effects on animal welfare. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 12, p. 1-15, dez. 2015.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o fornecimento de dois fenos na secagem e bem-estar de vacas leiteiras.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Proceder à análise bromatológica dos fenos fornecidos para as vacas durante a secagem;
- b) Mensurar a produção de leite e o consumo de matéria seca das vacas na secagem;
- c) Monitorar o comportamento de vacas leiteiras durante a secagem utilizando dois tipos de fenos;
- d) Monitorar a saúde do úbere através do diagnóstico clínico de mastites;
- e) Fornecer subsídios técnicos aos produtores de leite sobre o manejo de secagem de vacas leiteiras com o fornecimento de fenos.

**ARTIGO<sup>1</sup>****Behavior and milk yield of dairy cows fed on two hay diets at dry-off****Ediane Zanin<sup>1</sup>, José Antonio Fregonesi<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Zootecnia, Rod. Celso Garcia Cid PR 445 Km 380, 86051-990 Campus Universitário, Londrina, Paraná, Brasil

**ABSTRACT** - The objective of this experiment was to investigate the effect of two hay diets on behavior and milk yield of dairy cows at dry-off. A total of sixteen late lactation dairy cows were randomly assigned to one of two dietary treatments, managed to the same decreasing milking frequency schedule and their behavior and milk yield were monitored during 6 consecutive days. Cows were initially fed on total mixed ration (TMR) for 3 days averaging 9.17 kg d<sup>-1</sup> de DM (Dry Matter) and then on day 0 switched to one of two experimental hay diets of *Cynodon dactylon* grass; Diet 1 = vaquero (D1) and Diet 2 = tifton 85 (D2) cultivars. Feeding, lying down and vocalization behaviors and milk yield were evaluated. Cows consumed on average D1= 8.62 and D2= 8.97 kg d<sup>-1</sup> on DM bases. The milk yield decreased from D1= 9.23 and D2= 10.56 kg d<sup>-1</sup> in day -1 to D1= 3.24 and D2= 3.77 kg d<sup>-1</sup> in day 5. The daily frequency of cow's vocalizations on D1 and D2 were respectively 6.88 and 10.63. In conclusion, both hay diets were efficient in decreasing dry matter intake and milk yield of dairy cows during the dry-off period without changing in the behaviors evaluated. However, new researches are suggested to obtain more information on the behavioral responses of dairy cows, mainly on the vocalization of the animals.

Key words: animal welfare, behavior, drying-off, hunger, vocalization

---

<sup>1</sup> O artigo foi redigido de acordo com as normas da Revista Brasileira de Zootecnia e será submetido para publicação nesta revista. Anexo 1

## Introduction

The process of ending dairy cows lactation (dry-off) is usually performed in dairy commercial farms about 60 days before of the estimate calving date. This management is important for several factors such as animal's general and reproductive health, fetal development and colostrum/milk production during lactation. However, there is a lack of information in the scientific literature on possible effects of dry-off procedures on behavior and welfare of dairy cows (Beever, 2006; Bertulat et al., 2013, Zobel et al., 2013).

The dry-off carried out abruptly in higher yielding cows, may cause discomfort because udder accumulation and leakage of milk for several days (Leitner et al., 2007; Tucker et al., 2007). The pain, hunger and discomfort during this period may cause distress in dairy cows (Martini et al., 2000). The distress may be identified through the animals behavioral changes, such as: increased vocalization frequency, reduction in food consumption and time spent standing without eating, which are associated with high levels of cortisol (Anil et al., 2002; Valizaheh et al., 2008).

Several feeding strategies associated with decreasing milking frequency during dry-off may be used, so that it would be less stressful for the animals (Odensten et al., 2005). A drastic feed restriction combined with reduced milk frequency is a common strategy used in commercial dairy farms and, additionally, high-yielding dairy cows may suffer from severe metabolic stress and health problems such as mastitis (Odensten et al., 2007). Even though diets with lower energy contents density may be used to reduce milk production (Tucker et al., 2009), this strategy depends on the quality of the food chosen so that the animal consumes enough nutrients that guarantee satiety without affecting its welfare (Valizaheh et al., 2008). Therefore, different types of hay can be used during the dry-off management, because it's lower energy and higher fiber content. The objective of this study was to evaluate the effects

of two types of hay commonly found in Paraná, South of Brazil farms, on dairy cows behavior and milk production at the dry-off.

### **Material and Methods**

The experiment was carried out in a small commercial dairy farm located in the Southwest of Paraná, between November 2015 and March 2016 according to the expected drying time of each animal. All experimental procedures followed the norms of the Committee of Ethics in the Use of Animals of the State University of Londrina (15909.2015.70). The herd of lactating cows had 40 animals and a total of sixteen experimental Holstein dairy cows, 5 primiparous and 11 multiparous, balanced (mean  $\pm$  SD) for body weight of  $521.56 \pm 59.54$  kg, body condition score (BCS) of  $3.22 \pm 0.36$ , parity of  $2.31 \pm 1.20$ , milk yield of  $12.69 \pm 2.15$  kg day<sup>-1</sup>, and average days in milk (DIM) of  $220.88 \pm 9.72$  days were used. The animals were individually housed in a maternity outdoor pen, which allowed visual contact between cows. The two experimental pens had a flooring surface covered by grass *Axonopus compressu*. They were separated by electric fence dividers and measured  $1687.50$  m<sup>2</sup>. Inside each pen the cows had access to natural and artificial shade, a feed trough measuring 1.5 m long and 0.50 m wide and a 100 liters concrete water trough.

Nine days before the expected dry-off, one cow from each treatment was individually housed at experimental pens paired throughout the experimental period. The animals were fed on total mixed ration (TMR) for lactating cows offered twice daily at 9:00 a.m. and 6:00 p.m. on the first 3 days. After this baseline period each animal was randomly assigned to two one of experimental hay diets D1 = vaquero (*Cynodon dactylon*) or D2 = tifton 85 (*Cynodon ssp.*). The hays were produced in the month of November of 2015 and stored in covered shed with lateral ventilation. All diets were offered ad libitum with approximately 10% off leftovers.

The dry matter intake (DMI) was estimated by the difference between the offered and the leftovers, weighed daily. All animals were submitted to the same milking frequency schedule and the behavior of each animal in the pen was monitored for 6 consecutive days (Table 1). The TMR consisted of corn silage and concentrate (corn bran, corn, soybean meal and added mineral premix) and was prepared to meet the nutritional requirements of cows at the end of lactation, according to the NRC (2001). The hay diets were offered *ad libitum*, in order to meet the minimum animals maintenance requirements.

Individual milk production was recorded daily through mechanical milking gauges. The interruption of milking occurred gradually until complete dry-off. The animals were monitored every three days for the incidence and prevalence of clinical mastitis by California Mastitis Test (CMT). After the last milking before the dry-off, cows had udder disinfection (dipping) and antibiotics based on neomycin and penicillin (BiomastVS – Biofarm) were administered intramammary to prevent mastitis.

The time that cows spent feeding and frequency of vocalization were recorded by direct observations. Feeding behavior was recorded at 10 min interval observations for 4 h/day as soon as the hay diets were offered to the animals (Martin and Bateson, 1993). The animals were considered to be eating, when their head was down in the feeding trough or in process of chewing the food. The vocalization frequency was observed continuously from 07:00 to 09:00 a.m. and from 16:00 to 06:00 p.m., before and after each milking. All cows were milked in a herringbone double six milking parlor. The first 10 minutes of vocalization frequency observation and feeding behavior were not considered to allow the cows to adapt with the presence of the observer (Valizahed et al., 2008), between the two pens.

Lying down behavior (sternum or lateral decubitus) and lying bouts were automatically monitored using data loggers (Onset Comp, HOBO Pendant-G UA-004-64) that recorded at one-minute interval the position of each animal during all experiment (1140

observations in 24 hours). These devices were fixed in the metatarsal region of one of the hind legs of each animal with latex bands (Co-flex), monitored daily.

To determine the chemical composition of silage and concentrate, samples were taken during the experimental period. The hay diets D1 and D2 samples were taken at five points of each bale and pooled to form a composed sample. The samples were duly identified and saved until laboratory analysis (Table 2). In the laboratory of the Universidade Estadual de Londrina, the samples were pre-dried in a greenhouse with forced air ventilation at 55°C for 72 hours and ground in a Willey mill type 1 mm diameter. The pre-dried samples were analyzed for dry matter (DM), crude protein (CP) and mineral matter (MM), according to procedures cited by AOAC (1990). Neutral detergent fiber (NDF) Van Soest et al. (1991) and acid detergent fiber (ADF) were determined according to the methodology of Van Soest (1967). Weather data (Table 3) were collected by the meteorological station of the Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, located at a distance of 35 km in a straight line from the farm.

Data were analyzed using SAS statistical software (SAS Institute Inc., 2009). The chemical composition of the vaquero and tifton 85 hays and total mixed ration were compared by Analysis of Variance (SAS PROC ANOVA). Shapiro Wilk test for residue analysis of the variables under study showed that the data were not normally distributed (SAS PROC UNIVARIATE) and were not amenable to transformation. Considering also that parametric statistics are not robust for small sample sizes, the non-parametric Mann-Whitney test was used to compare the total duration of the individual behaviors of cows fed on vaquero or tifton 85 hays. The dry matter intake and milk production and climatic variables were also compared by non-parametric Mann-Whitney statistic test. Differences among days were tested using the non-parametric Kruskal-Wallis test (SAS PROC NPAR1WAY). The bouts frequency per cow was analyzed using the Poisson distribution (SAS PROC GENMOD) and

the model fit analyzed using the deviance statistics. Correlations between numbers of vocalizations and milk production or DMI were tested using Spearman rank-order correlation (SAS PROC CORR). All p values are bilateral. The cow was used as the experimental unit (n = 8), evaluated for six days in a completely randomized design.

## Results

There were no significant differences ( $P>0.05$ ) between D1 and D2 for behavior, milk yield, DMI (Table 4) and weather variables (Table 3). With the advance of the experimental days towards to the dry-off and switching TMR by hay diets (day 0), milk yield was reduced gradually (Figure 1). The milk yield decreased from D1 = 9.23 and D2 = 10.56 kg d<sup>-1</sup> in day -1 when fed with TMR to D1 = 3.24 and D2 = 3.77 kg d<sup>-1</sup> in day 5 ( $P<.0001$ ) fed with hay only. The animals vocalization frequency on day -1 was D1 = 126 and D2 = 184 times, after diet change on day 0 the frequency was D1 = 179 and D2 = 239 times. On the last day of the experiment the animals reduced the vocalization frequency to D1 = 80 and D2 = 120 times. The effect of day in time that animals spent feeding ( $P=0.0083$ ) was observed. There were no differences ( $P>0.05$ ) for other variables along the experiment (Table 4). There were no significant correlation ( $P>0.05$ ) among vocalization, milk production, DMI and weather variables. No cases of mastitis were observed during the experiment period and after calving. Also, there were no significant differences ( $P=0.1951$ ) in lying bouts per cow between treatments.

The chemical composition of the diets used during the experiment is presented in Table 2. There were no significant differences for DM and MM contents between experimental hay ( $P>0.05$ ). However, there were significant between TMR and both hay diets ( $P<0.05$ ) total ration. The crude protein concentration in D1 was higher values than TMR and

D2 ( $P<0.05$ ). Levels of neutral detergent fiber and acid detergent fiber were higher in D2, followed by D1 and TMR ( $P<0.05$ ).

### **Discussion**

Dairy cows showed few behavioral responses after switching from TMR to hay D1 and D2. This indicates that the use of tifton 85 and vaquero hays may substitute the total ration in the drying process, but the fact that the cows responded with vocalization behavior suggests need for new studies about viability of different types of forage as dry-off strategies. The vocalizations on day -1 may have occurred due to the isolation of the herd and absence daily routine, since according to Broom (2006) the vocalizations are related to feelings of hunger and frustration that is triggered in these situations. Therefore vocalization frequency observed at day 0 may be associated with frustration due to dietary change, reward cycle with unfinished concentrate after milking, triggering a negative experience by changing routine, hunger, and frustration (Zobel et al., 2013; Broom and Molento, 2004). Similarly, Valizaheh et al. (2008) observed no vocalizations of dairy cows fed on TMR one day before switching from TMR to oat or fescue grass hay diets. However, different from our observations they found that, the vocalization frequency was higher when cows were fed oat than fescue grass hays.

Additionally, vocalization may be related to hunger, therefore according to D'Eath et al. (2009) vocalization is a way to sign the affective state of hunger, and the use of different forms of food restriction in the management of cows dry-off, despite being common in dairy farms, affects the welfare of the animals causing changes in vocalization frequency, alternation of rest and cow restlessness (Österman and Redbo, 2001; Silanikove et al., 2013; Valizaheh et al., 2008). In the present study there was a tendency for vocalization behavior ( $P=0.0755$ ), probably a larger number of animals, different diets and another experimental

design could be an alternative to relate vocalization to the affective state of hunger or frustration.

The lower lying down time in both treatments may have been influenced by precipitation ( $r=0.3191$ ,  $P=0.0004$ ), since according to Fregonesi et al. (2007) dairy cows show a clear preference for a dry rather than wet surface for lying down. However, the time that the cows spent lying down is in agreement with literary data (Haley et al., 2001). The effect of day on time spent feeding can be explained in part by precipitation ( $r=-0.25$ ,  $P=0.0042$ ) and humidity ( $r=0.19$ ,  $P=0.0362$ ), because the feeding behavior can be influenced by the environmental conditions, management and characteristics of the diet, altering the time spent and its distribution during the day (Marques et al., 2008).

The reduction in DMI shortly after the replacement of the total ration by hays (day 0) may have occurred due to the change in diet, since on subsequent days consumption increased (Figure 1), spending more time feeding ( $P<0.0083$ ). This may be associated with the initial rejection of the diet, as well as with diet adaptation and/or attempt to supply the accumulated nutritional deficits, or not, during the drying process. The reductions in milk yields along the experiment may be related to the natural physiological drying process ( $P <0.0001$ ), and by replacing whole rations on day 0 by feed with lower nutritional values (hays) mainly in energetic terms (Figure 1). The production of milk and DMI was also in the study by Valiseh et al. (2008) also decreases with the exclusive supply of hay.

The use of Tifton 85 and vaquero hays instead of total ration may favored a reduction in milk production due to their higher concentrations of NDF and ADF, since foods with high NDF contents (greater than  $550 \text{ g kg}^{-1} \text{ DM}$ ) and ADF (greater than  $400 \text{ g kg}^{-1} \text{ DM}$ ) can cause physical consumption limitations (effect of filling) and reduced feed digestibility (Van Soest, 1994; Nussio et al., 1998; Allen, 2000). The highest levels of DM and MM in the hays in relation to the total ration occurred due to the greater participation of the corn silage in this

one, knowing that silages generally present DM contents between 300 to 350 g kg<sup>-1</sup> (Nussio, 2001; Pegoraro et al., 2016), whereas feeds preserved in the form of hay present levels of DM between 750 and 850 g kg<sup>-1</sup> (Cabral et al., 2006). Similarly, in the production of hay there is concentration of nutrients through the dehydration process, which may explain the higher MM levels contents observed in them (Reis et al., 2001).

The highest CP concentrations observed for vaquero hay compared to tifton 85 may have occurred due to the more advanced physiological stage of tifton 85 hay when harvested and better vaquero forage nutritional quality. However, the CP content of the total ration lower to the vaquero hay may be explained due to its purpose, that is, it is formulated for cows at the end of lactation (Taffarel et al., 2014). The highest levels of NDF and ADF observed for Tifton hay are justified by the better quality of the vaquero and at the ideal harvest point. In relation to the total ration, the lowest concentrations of NDF and ADF occurred due to the lower concentration of these components observed in the silage (533.5 g kg<sup>-1</sup> NDF and 233.6 g kg<sup>-1</sup> ADF), as well, due to the dilution components when adding corn and soybean meal in the concentrate.

Although the animals have vocalized, it is noted that the use of feeds with low energy density can facilitate the handling of drying, as milk production is reduced and feeding and resting behaviors are not changed. Feeding and milk production are the main parameters to be managed in drying, which can avoid possible feelings of pain, hunger, behavioral changes, and favor the welfare of dairy cows.

### **Conclusion**

Both hay diets may be used as feeding strategy management to end lactation of dairy cows without changing the behaviors evaluated. However, new researches with a longer period of evaluation, larger numbers of animals and different types of hay and dry-off

strategies are suggested to obtain more information on the behavioral responses of dairy cows, mainly on the vocalization of the animals.

## References

- Allen, M. S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle, *Journal of Dairy Science* 83:1598-1624.
- Anil, S. S. L. and Deen, J. 2002. Challenges of pain assessment in domestic animals. *Journal of the American Veterinary Medicine Association* 220:313-319.
- AOAC, Association of Official Analytical Chemists. 1990. *Official Methods of Analysis*. Edited by Kenneth Helrich. Arlington, Virginia.
- Bertulat, S.; Fischer-Tenhagen, C.; Suthar, V.; Möstl, E.; Isaka, N. and Heuwieser, W. 2013. Measurement of fecal glucocorticoid metabolites and evaluation of udder characteristics to estimate stress after sudden dry-off in dairy cows with different milk yields. *Journal of Dairy Science* 96:3774-3787.
- Beever, E. D. 2006. The impact of controlled nutrition during the dry period on dairy cow health, fertility and performance. *Animal Reproduction Science* 96:212-226.
- Broom, D. M. 2006. Behavior and welfare in relation to pathology. *Applied Animal Behavior Science* 97:73-83.
- Broom, D. M. and Molento, C. F. M. 2004. Animal welfare: concept and related issues—review. *Archives of Veterinary Science* 9:1-11.
- Cabral, S. L.; Valadares Filho, C. S.; Detmann, E.; Malafaia, M. A. P.; Zervoudakis, T. J.; Souza L. A.; Veloso, G. R. and Nunes, M. M. P. 2006. Consumo e digestibilidade dos nutrientes em bovinos alimentados com dietas à base de volumosos tropicais. *Revista Brasileira de Zootecnia* 35:2406-2412.
- D’earth, B. R.; Tolkamp, J. B.; Kyriazakis, I. and Lawrence, B. A. 2009. ‘Freedom from hunger’ and preventing obesity: The animal welfare implications of reducing food quantity or quality. *Animal Behavior* 77:275-288.
- Fregonesi, A. J.; Vieira, M. D.; von Keyserlingk, G. A. M. and Weary, M. D. 2007. Effects of bedding quality on lying behavior of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 90:5468-5472.
- Haley, D. B.; Passillé, A. M. and Rushen, J. 2001. Assessing cow comfort: effects of two floor types and two tie stall designs on the behavior of lactating dairy cows. *Applied Animal Behavior Science* 71:105-117.
- Leitner, G.; Jacoby, S.; Maltz, E. and Silanikove, N. 2007. Casein hydrolyzate intramammary treatment improves the comfort behavior of cows induced into dry-off. *Livestock Science* 110:292-297.
- Marques, J. A.; Pinto, P. A.; Abrahão, S. J. J. and Nascimento, G. W. 2008. Intervalo de tempo entre observações para avaliação do comportamento ingestivo de tourinhos em confinamento. *Sêmima: Ciências Agrárias* 29:955-960.

- Martini, L. Lorenzi, R. N.; Cinotti, S.; Fini, M.; Giavaresi, G. and Giardino, R. 2000. Evaluation of pain and stress levels of animals used in experimental research. *Journal of Surgical Research* 88:114-119.
- Martin, P.; Bateson, P. 1993. *Measuring behavior: an introductory guide*. Cambridge: Cambridge University press. 2 ed. 222p
- National Research Council. 2001. *Nutrient requirements of dairy cattle*. 7th ed. National Academy Press, Washington.
- Nussio, L. G.; Manzono, R. P.; and Pedreira, C.G.S. 1998. Valor alimentício em plantas do gênero *Cynodon*. p. 203. In: *Anais do Simpósio sobre manejo de pastagem*, Piracicaba.
- Nussio, L. G.; Campos, F. P. and Dias, F. N. 2001. Importância da qualidade da porção vegetativa no valor alimentício da silagem de milho. p. 127-145. In: *Anais do Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas*, Maringá.
- Odensten, O. M.; Chilliard, Y. and Holtenius, K. 2005. Effects of two different feeding strategies during dry-off on metabolism in high-yielding dairy cows. *Journal of Dairy Science* 88:2072-2082.
- Odensten, O. M.; Holtenius, K. and Persson-Waller K. 2007. Effects of two different feeding strategies during dry off on certain health aspects of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 90:898-907.
- Österman, S. and Redbo, I. 2001. Effects of milking frequency on lying down and getting up behaviour in dairy cows. *Applied Animal Behavior Science* 70:167-176.
- Pegoraro, L. P.; Krahl, G. and Mantovani, A. 2016. Composição bromatológica de silagem de milho durante o período de utilização em diferentes níveis tecnológicos. *Unoesc & Ciência - ACBS Joaçaba* 7:39-46.
- Reis, A. R.; Moreira, A. L. and Pedreira, M. S. 2001. Técnicas para produção e conservação de fenos de forrageiras de alta qualidade. p.319. In: *Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas*, Maringá.
- Silanikove, N.; Merin, U.; Shapiro, F. and Leitner, G. 2013. Early mammary gland metabolic and immune responses during natural-like and forceful drying-off in high-yielding dairy cows. *Journal of Dairy Science* 96:6400–6411.
- Taffarel, E. L.; Mesquita, E. E.; Castagnara, D. D.; Oliveira, P. S. R.; Escocard, T. N.; Galbeiro, S. and Costa, B. P. 2014. Produção de matéria seca e valor nutritivo do feno do tifton 85 adubado com nitrogênio e colhido com 35 dias. *Revista Brasileira de Saúde Produção Animal* 15:544-560.
- Tucker, C. B.; Lacy-Hulbert, S. J. and Webster, J. R. 2007. Milking cows once daily influences behavior and udder firmness at peak and mid lactation. *Journal of Dairy Science* 90:1692-1703.

- Tucker, C. B.; Lacy-Hulbert, S. J. and Webster, J. R. 2009. Effect of milking frequency and feeding level before and after dry off on dairy cattle behavior and udder characteristics. *Journal Dairy Science* 92:3194-3203.
- Valizaheh, R.; Veira, M. D. and Von Keyserlingk, G. A. M. 2008. Behavioral responses by dairy cows provided two hays of contrasting quality at dry-off. *Applied Animal Behavior Science* 109:190-200.
- Van Soest, P. J. 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2th ed. Ithaca: Cornell University Press. New York.
- Van Soest P. J.; Robertson, J. B. and Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 3583-3597.
- Van Soest P. J. 1967. Development of a comprehensive system of feed analysis and its application to forage. *Journal Animal Science* 26: 119-128.
- Zobel, G.; Leslie, K.; Weary, M. D. and Von Keyserlingk, G. A. M. 2013. Gradual cessation of milking reduces milk leakage and motivation to be milked in dairy cows at dry-off. *Journal of Dairy Science* 96:5064-71.

Table 1 - The schedule of feed, milking and behavioral observations used when dairy cows were initially fed on total mixed ration (TMR) (days -3 to -1) followed by either D1 = vaquero or D2 = tifton 85 during the 8 days experimental period which ended with the cessation of milking (dry-off)

Day	Diet	Milking frequency	Behavior <sup>a</sup>
-3	TMR	07h00 e 17h00	
-2	TMR	07h00 e 17h00	Feeding and lying down
-1	TMR	07h00 e 17h00	Feeding, vocalization and lying down
0	D1 or D2	07h00 e 17h00	Feeding, vocalization and lying down
1	D1 or D2	07h00	Feeding and lying down
2-3	D1 or D2	17h00	Feeding and lying down
4	D1 or D2	No milking	Feeding, vocalization and lying down
5	D1 or D2	07h00 Dry-off	Feeding, vocalization and lying down

<sup>a</sup> Time spent feeding was estimated during 4 h/day using 10-min interval of direct visual observations as soon as the hay diets were offered to the animals. Lying down behavior was estimated using data loggers attached to the rear leg of the cows. Vocalizations were observed continuously from 07:00 to 09:00 a.m. and from 16:00 to 06:00 p.m., before and after each milking on days -1, 0 and on days 4 and 5.

Table 2 - The chemical composition (mean  $\pm$  SD) of TMR, D = vaquero and D2= tifton 85 hay diets used in the study

<sup>1</sup> Itens	TMR	D1	D2
DM (g kg <sup>-1</sup> )	425.3 $\pm$ 0.55 b	888.4 $\pm$ 0.31 a	885.8 $\pm$ 0.33 a
MM (g kg <sup>-1</sup> )	43.70 $\pm$ 0.02 b	74.50 $\pm$ 0.60 a	74.60 $\pm$ 0.76 a
CP (g kg <sup>-1</sup> )	108.0 $\pm$ 0.11 b	129.7 $\pm$ 2.70 a	91.70 $\pm$ 1.41 c
NDF (g kg <sup>-1</sup> )	456.1 $\pm$ 0.38 c	669.2 $\pm$ 2.22 b	773.8 $\pm$ 2.85 a
ADF(g kg <sup>-1</sup> )	194.8 $\pm$ 0.19 c	262.0 $\pm$ 1.26 b	358.7 $\pm$ 1.88 a

<sup>1</sup>DM: Dry matter, in g kg<sup>-1</sup> of natural material; MM: mineral matter; NDF: neutral detergent fiber; ADF: Acid detergent fiber and CP: crude protein, expressed on the basis of DM.

TMR: Total Mixed Ration; D1: Vaquero hay; D2: Tifton 85 hay

Lowercase letters differ between TMR, D1 and D2 (lines)

Table 3 - Monthly weather variables mean  $\pm$  SD during all experimental period

Month	Temperature (°C)	Humidity (%)	*Precipitation (mm)	**Total precipitation (mm)
November	20.80 $\pm$ 1.42	87.00 $\pm$ 7.50	8.73 $\pm$ 13.53	78.60
December	23.89 $\pm$ 1.10	75.79 $\pm$ 15.67	13.78 $\pm$ 17.20	124.00
February	22.60 $\pm$ 5.32	90.12 $\pm$ 22.49	11.49 $\pm$ 17.44	188.40
March	20.93 $\pm$ 1.72	95.00 $\pm$ 5.00	11.36 $\pm$ 17.42	239.80

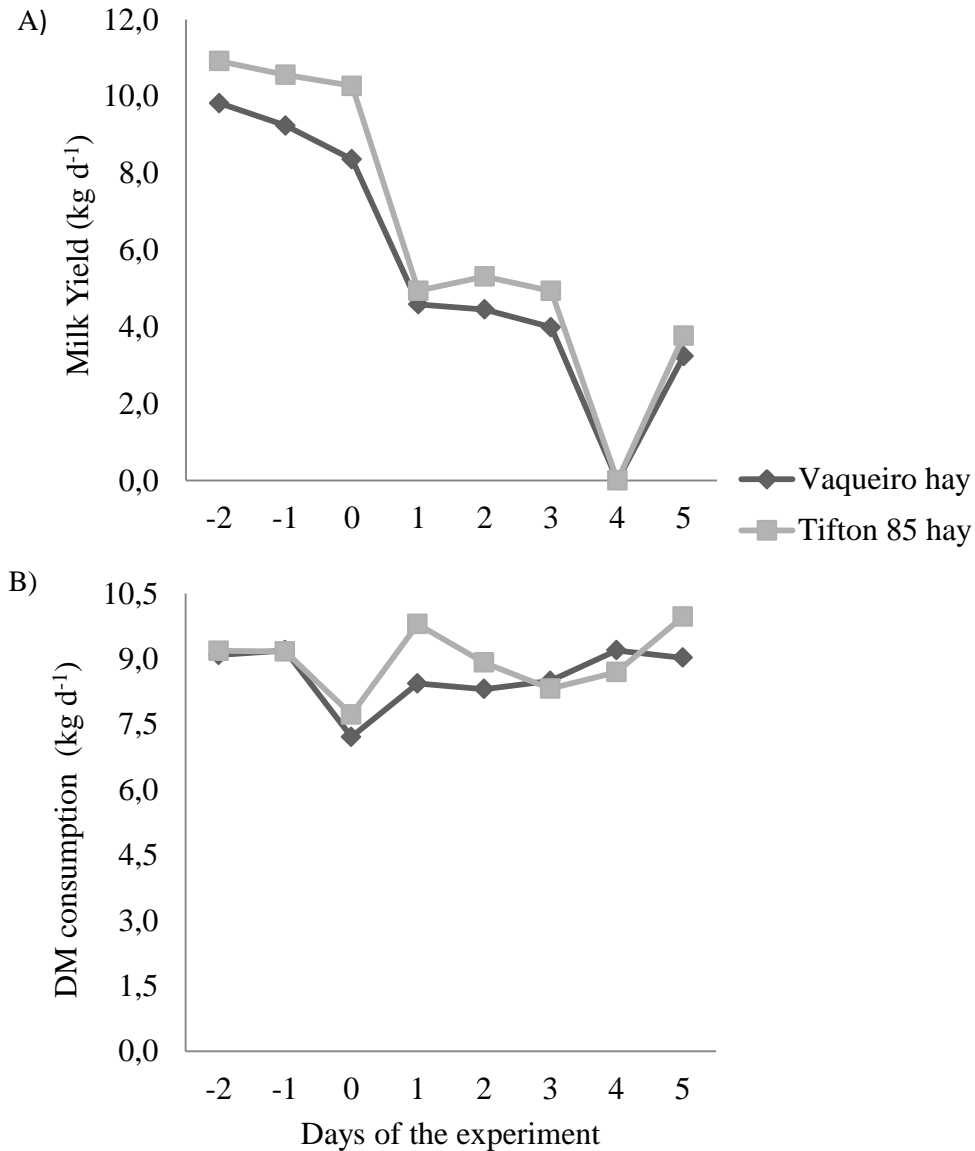
Source: Meteorological Station of the Universidade Tecnológica Federal do Paraná Dois Vizinhos.\*Total precipitation during the experimental days in that month \*\*Monthly precipitation

Table 4 - Mean  $\pm$  SD of feeding, lying down, vocalization, milk yield and DMI of dairy cows fed on either D1 = vaquero or D2 = tifton 85 during the 6 day experimental period which ended with the cessation of milking (dry-off)

Variables	Hay diet		P>f	
	D1	D2	Treat	Day
Body weight (kg)	516.38 $\pm$ 51.19	526.75 $\pm$ 70.10		
DMI (g/kg of BW)	16.6 $\pm$ 0.66	17.0 $\pm$ 0.69		
DMI (kg d <sup>-1</sup> )	8.62 $\pm$ 2.88	8.97 $\pm$ 2.48	0.7622	0.4118
Milk Yield (kg d <sup>-1</sup> )	5.46 $\pm$ 3.03	6.34 $\pm$ 3.38	0.0927	<0.0001
<sup>1</sup> Feeding (min/4h)	144.22 $\pm$ 50.95	142.19 $\pm$ 42.63	0.4585	0.0083
Lying down (min d <sup>-1</sup> )	645.35 $\pm$ 141.17	642.59 $\pm$ 145.12	0.3163	0.4783
Vocalization frequency	6.88 $\pm$ 12.83	10.63 $\pm$ 15.97	0.0755	0.0691

<sup>1</sup>Feeding behavior was recorded at 10 min interval observations for 4 h/day as soon as the hay diets were offered to the animals. D1: vaquero; D2: Tifton 85; DMI: Dry matter intake; BW: Body weight

Figure 1 - A) Mean  $\pm$  SD of milk yield (kg/cow/day); B) dry matter intake (DMI) (kg/cow/day) of dairy cows initially fed on TMR for 3 days prior to introduction of hay diets D1 = vaquero and D2 = Tifton 85



### Acknowledgments

We thank the postdoctoral student dr. Mábio Silvan José da Silva, and the PhD student Francine Mezzomo Giotto for the contribution in the work. The authors also would like to thank the postgraduate program in Animal Science of the State University of Londrina (UEL, Londrina, Brazil) and the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel (CAPES, Brasília, Brazil).

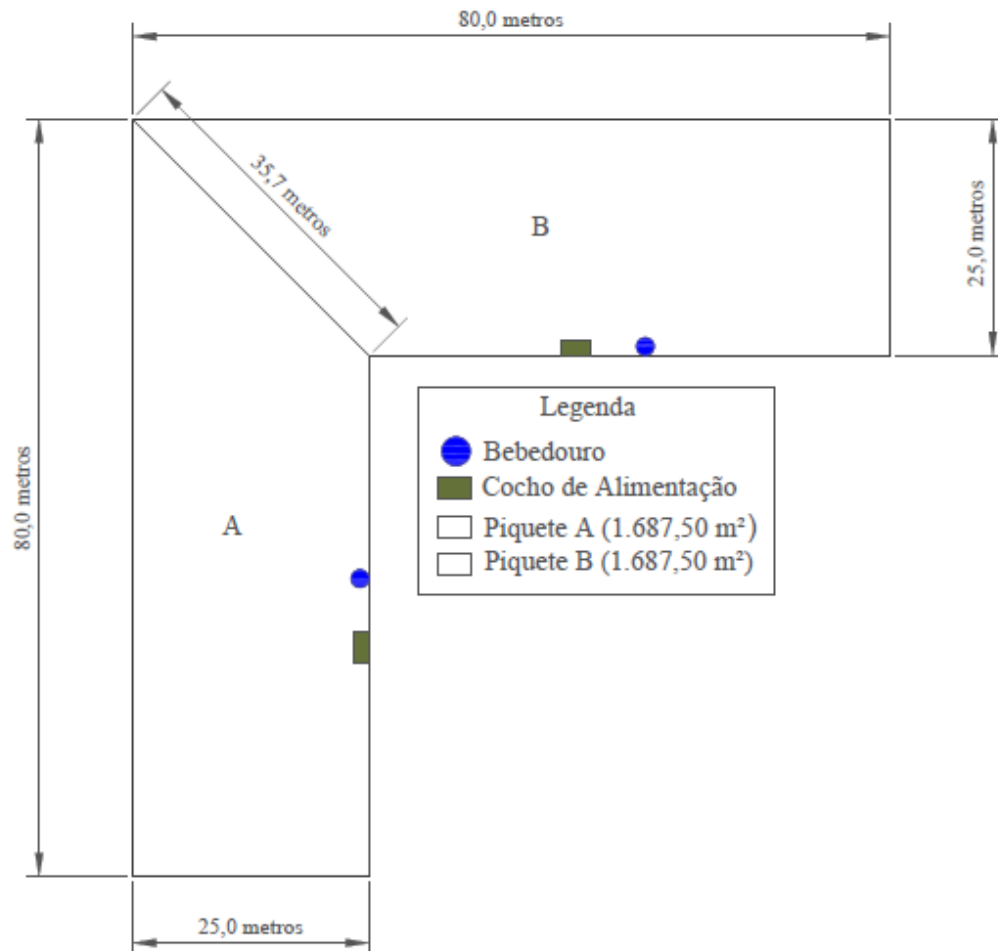
## **5 CONCLUSÃO**

O manejo de secagem é complexo e com poucos estudos relacionados ao bem-estar dos animais durante esse período. A avaliação do comportamento animal oferece subsídios para desvendar os diferentes problemas que ocorrem com os animais de produção. É necessário por meio de estudos científicos encontrar uma estratégia de secagem que permita realiza-la de forma adequada sem causar dor, fome e sofrimento para as vacas leiteiras.

## APÊNDICES

## APÊNDICE A

Croqui esquemático da área experimental



**Figura 1.** Área experimental, disposição dos piquetes, cochos e bebedouros.

## APÊNDICE B

*Data logger* para mensurar o comportamento de repouso



**Figura 2** - *Data logger* e cabo conector para o download das informações



**Figura 3** - Animal com o *data logger* fixado na perna traseira

**ANEXOS**

## ANEXO 1

## Revista Brasileira de Zootecnia (Instruções para autores)

Instructions to Authors – 2015<sup>1</sup>

## Topics:

1. Scope .....	1
2. Editorial policies .....	1
2.1. Open access and peer review .....	1
2.2. Assurance of contents and assignment of copyright .....	2
2.3. Language .....	2
2.4. Publication costs .....	2
2.5. Care and use of animals .....	2
2.6. Types of articles .....	3
3. Guidelines to prepare the manuscript .....	3
3.1. Structure of a full-length research article .....	3
3.2. Structure of the article for short communication and technical note .....	7
3.3. Additional guidelines for style and units – Use of percentage .....	7
3.4. Additional guidelines for style and units – Representation of dispersion .....	8
3.5. Additional guidelines for style and units – Use of abbreviations .....	12
4. Guidelines to submit the manuscript .....	15
4.1. The Manuscript Central™ online system .....	15
4.2. The cover letter .....	16

## 1. Scope

*Revista Brasileira de Zootecnia*-Brazilian Journal of Animal Science (RBZ) encompasses all fields of Animal Science Research. The RBZ publishes original scientific articles in the areas of Aquaculture; Forage; Animal Genetics and Breeding; Animal Reproduction; Ruminant and Non-Ruminant Nutrition; Animal Production Systems and Agribusiness.

## 2. Editorial policies

## 2.1. Open access and peer review

The RBZ is sponsored by the Brazilian Society of Animal Science, which provides readers or their institutions with free access to peer-reviewed articles published online by RBZ. Users have the right to read, download, copy, distribute, print, search, or link to the full texts of

articles. *Revista Brasileira de Zootecnia* is included in the Directory of Open Access Journals (DOAJ).

All the contents of this journal, except where otherwise noted, are licensed under a Creative Commons attribution-type BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

A peer-review system is exerted on manuscripts sent for appreciation to maintain standards of quality, improve performance, and provide credibility. We use the double-blind style of reviewing by concealing the identity of the authors from the reviewers, and vice versa. Communication with authors should only be through the Scientific Editor (named as Editor-in-chief). Authors are given the chance to designate names to be considered by the Editor-in-chief as preferred or non-preferred reviewers. Reviewers should notify the editor about conflicts of interest (either positive or negative) that may compromise their ability to provide a fair and an unbiased review.

<sup>1</sup> Revised September 2015.

## 2.2. Assurance of contents and assignment of copyright

When submitting a manuscript for review, authors should make sure that the results of the work are original, and that the total or partial content of the manuscript, regardless of the language, has not been/ is not being considered for publication in any other scientific journal. Additionally, the authors assure that if they have used the work and/or words of others this has been appropriately cited or quoted warranting absence of plagiarism, which constitutes unethical publishing behavior.

Papers already published or that have been submitted to any other journal will not be accepted. Fractioned or subdivided studies should be submitted together because they will be assigned to the same reviewers.

The content of the articles published by *Revista Brasileira de Zootecnia* is of sole responsibility of their authors.

Authors who have a manuscript approved by RBZ are also requested to authorize that the right of total or partial electronic and graphic reproduction (copyright) of the paper be transferred to the Brazilian Society of Animal Science, which ensure us the rights necessary for the proper administration of electronic rights and online dissemination of journal articles.

After completing the submission of the manuscript by using the Manuscript Central™ online system, the corresponding author will be asked to upload the file named Assurance of Contents and Copyright and will be responsible for obtaining the signatures of all co-authors. A template with the same name has been already prepared by the Brazilian Society of Animal Science and is available on the journal website at <http://www.revista.sbz.org.br/assurance-of-contents/?idiom=en>.

The original text of the template must not be altered but only completed with the necessary information. All authors are invited to fill it out properly, sign it, scan and email it to RBZ's office by: [secretariarbz@sbz.org.br](mailto:secretariarbz@sbz.org.br) confirming or even disagreeing with their participation in the manuscript.

The manuscript will not be considered for peer reviewing without this form. The deadline will be set allowing a period of 15 days for delivery of forms, after which the editorial office will act by withdrawing the manuscript.

## 2.3. Language

Submissions will only be accepted in the English language (either American or British spelling). The editorial board of RBZ reserves the right to demand that authors revise the translation or to cancel the processing of the manuscript if the English version submitted contains errors of spelling, punctuation, grammar, terminology, jargons or semantics that can either compromise good understanding or not follow the Journal's standards. It is strongly recommended that the translation process be performed by native speakers of English.

## 2.4. Publication costs

The payment of the processing fee is a prerequisite for submitting manuscripts to referees. Authors will be charged the amount of R\$ 53.00 (Fifty-three Brazilian Reals and no cents) per manuscript, which must be done by credit card, accordingly to guidance available on the SBZ website ([www.sbz.org.br](http://www.sbz.org.br)).

The current charge for publication is different for members and non-members of the BSAS. Considering full-length articles, the fee for members is R\$ 160.00 (up to 8 pages in the final format) and R\$ 59.00 for each extra page. Once the manuscript is approved, all authors must meet the deadline of current year's membership fee, except for the co-authors who do not work directly in that area, provided they are not the first author and have not published more than one article in the year in question (recurrence). For non-members of BSAS, there is a charge of R\$ 128.00 per page (up to 8 pages in the final format) and R\$ 251.00 for each page that exceeds it.

## 2.5. Care and use of animals

The *Revista Brasileira de Zootecnia* is committed to the highest ethical standards of animal care and use. Research presented in manuscripts reporting the use of animals must guarantee to have been conducted in accordance with applicable federal, state, and local laws, regulations, and policies governing the care and use of animals. The author should ensure that the manuscript contains a statement that all procedures were performed in compliance with relevant laws and institutional guidelines and, whenever pertinent, that the appropriate institutional committee(s) has approved them before commencement of the study.

## 2.6. Types of articles

### *Full-length research article*

A full-length research paper provides a complete account of the experimental work. The text should represent the research process and foster its cohesive understanding and a coherent explanation regarding all the experimental procedures and results and must provide the minimal information necessary for an independent reproduction of the research.

### *Short communication*

A succinct account of the final results of an experimental work, which has full justification for publication, although with a volume of information which is not sufficient to be considered a full-length research article. The results used as the basis to prepare the short communication cannot be used subsequently, neither partially nor wholly, for the presentation of a full-length article.

### *Technical note*

An evaluation report or proposition of a method, procedure or technique that correlates with the scope of RBZ. Whenever possible, one should show the advantages and disadvantages of the new method, procedure or technique proposed, as well as its comparison with those previously or currently employed, presenting the proper scientific rigor in analysis, comparison, and discussion of results.

### *Board-invited reviews*

An approach that represents state-of-the-art or critical view of issues of interest and relevance to the scientific community. It can only be submitted by invitation of the editorial board of RBZ. The invited reviews will be subjected to the peer-review process.

### *Editorial*

Notes to clarify and establish technical guidelines and/or philosophy for designing and making of articles to be submitted and evaluated by RBZ. The editorials will be drafted by or at the invitation of the editorial board of RBZ.

## 3. Guidelines to prepare the manuscript

### 3.1. Structure of a full-length research article

Figures, Tables, and Acknowledgments should be sent as separated files and not as part of the body of the manuscript.

The article is divided into sections with centered headings, in bold, in the following order: Abstract, Introduction, Material and Methods, Results, Discussion (or Results and Discussion), Conclusions, Acknowledgments (optional) and References. The heading is not followed by punctuation.

#### 3.1.1. Manuscript format

The text should be typed by using Times New Roman font at 12 points, double-space (except for Abstract and Tables, which should be set at 1.5 space), and top, bottom, left and right margins of 2.5, 2.5, 3.5, and 2.5 cm, respectively.

The text should contain up to 25 pages, sequentially numbered in arabic numbers at the bottom, leaving the authors to bear the additional costs of publishing extra pages at the time of publication (see publication costs). The file must be edited by using Microsoft Word® software.

#### 3.1.2. Title

The title should be precise and informative, with no more than 20 words. It should be typed in bold and centered as the example: **Nutritional value of sugar cane for ruminants**. Names of sponsor of grants for the research should always be presented in the Acknowledgments section.

#### 3.1.3. Authors

The name and institutions of authors will be requested at the submission process; therefore they should not be presented in the body of the manuscript. Please see the topic 4. Guidelines to submit the manuscript for details.

The listed authors should be no more than eight.

Spurious and "ghost" authorships constitute an unethical behavior. Collaborative inputs, hand labor, and other types of work that do not imply intellectual contribution may be mentioned in the Acknowledgments section.

#### 3.1.4. Abstract

The abstract should contain no more than 1,800 characters including spaces in a single paragraph. The information in the abstract must be precise. Extensive abstracts will be returned to be adequate with the guidelines.

The abstract should summarize the objective, material and methods, results and conclusions. It should not contain any introduction. References are never cited in the abstract.

The text should be justified and typed at 1.5 space and come at the beginning of the manuscript with the word ABSTRACT

capitalized, and initiated at 1.0 cm from the left margin. To avoid redundancy the presentation of significance levels of probability is not allowed in this section.

### 3.1.5. Key Words

At the end of the abstract list at least three and no more than six key words, set off by commas and presented in alphabetical order. They should be elaborated so that the article is quickly found in bibliographical research. The key words should be justified and typed in lowercase. There must be no period mark after key words.

### 3.1.6. Introduction

The introduction should not exceed 2,500 characters with spaces, briefly summarizing the context of the subject, the justifications for the research and its objectives; otherwise it will be rerouted for adaptation. Discussion based on references to support a specific concept should be avoided in the introduction.

Inferences on results obtained should be presented in the Discussion section.

### 3.1.7. Material and Methods

Whenever applicable, describe at the beginning of the section that the work was conducted in accordance with ethical standards and approved by the Ethics and Biosafety Committee of the institution.

A clear description on the specific original reference is required for biological, analytical and statistical procedures. Any modifications in those procedures must be explained in detail.

### 3.1.8. Results and Discussion

In making this section, the author is granted to either combine the results with discussion or to write two sections by separating results and discussion (which is encouraged). Sufficient data, with means and some measure of uncertainty (standard error, coefficient of variation, confidence intervals, etc.) are mandatory, to provide the reader with the power to interpret the results of the experiment and make his own judgment. The additional guidelines for styles and units of RBZ should be checked for the correct understanding of the exposure of results in tables. The Results section cannot contain references.

In the Discussion section, the author should discuss the results clearly and concisely and integrate the findings with the literature published to provide the reader with a broad base on which they will accept or reject the author's hypothesis.

Loose paragraphs and references presenting weak relationship with the problem being discussed must be avoided. Neither speculative ideas nor propositions about the hypothesis or hypotheses under study are encouraged.

### 3.1.9. Conclusions

Be absolutely certain that this section highlights what is new and the strongest and most important inferences that can be drawn from your observations. Include the broader implications of your results. The conclusions are stated by using the present tense.

### 3.1.10. Acknowledgments

This section is optional. It must come right after the conclusions.

The Acknowledgments section must not be included in the body of the manuscript; instead, a file named Acknowledgment should be prepared and then uploaded as an additional document during submission. This procedure helps RBZ to conceal the identity of authors from the reviewers.

### 3.1.11. Use of 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 use of author-defined abbreviations and acronyms should be avoided, as for instance: T3 was higher than T4, which did not differ from T5 and T6. This type of writing is appropriate for the author, but of complex understanding by the readers, and characterizes a verbose and imprecise writing.

### 3.1.12. Tables and Figures

It is essential that tables be built by option "Insert Table" in distinct cells, on Microsoft Word® menu (No tables with values separated by the ENTER key or pasted as figure will be accepted). Tables and figures prepared by other means will be rerouted to author for adequacy to the journal guidelines.

Tables and figures should be numbered sequentially in Arabic numerals, presented as separate files to be uploaded, and must not appear in the body of the manuscript.

The title of the tables and figures should be short and informative, and the descriptions of the variables in the body of the table should be avoided.

In the graphs, designations of the variables on the X and Y axes should have their initials in capital letters and the units in parentheses.

Non-original figures, i.e., figures published elsewhere, are only allowed to be published in RBZ with the express written consent of the publisher or copyright owner. It should contain, after the title, the source from where they were extracted, which must be cited.

The units and font (Times New Roman) in the body of the figures should be standardized.

The curves must be identified in the figure itself. Excessive information that compromises the understanding of the graph should be avoided.

Use contrasting markers such as circles, crosses, squares, triangles or diamonds (full or empty) to represent points of curves in the graph.

Figures should be built by using Microsoft Excel<sup>®</sup>, or even the software Corel Draw<sup>®</sup> (CDR extension) to allow corrections during copyediting, and uploaded as separate files, named Figures during submission. Use lines with at least 3/4 width. Figures should be used only in monochrome and without any 3-D or shade effects. Do not use bold in the figures.

The decimal numbers presented within the tables and figures must contain a point, not a comma mark.

Mathematical formulas and equations must be inserted in the text as an object and by using Microsoft Equation or a similar tool.

### 3.1.13. References

Reference and citations should follow the Name and Year System (Author-date)

### 3.1.14. Citations in the text

The author's citations in the text are in lowercase, followed by year of publication. In the case of two authors, use 'and'; in the case of three or more authors, cite only the surname of the first author, followed by the abbreviation et al.

Examples:

*Single author:* Silva (2009) or (Silva, 2009)

*Two authors:* Silva and Queiroz (2002) or (Silva and Queiroz, 2002)

*Three or more authors:* Lima et al. (2001) or (Lima et al., 2001)

The references should be arranged chronologically and then alphabetically within a year, using a semicolon (;) to separate multiple citations within parentheses, e.g.: (Carvalho, 1985; Britto, 1998; Carvalho et al., 2001).

Two or more publications by the same author or group of authors in the same year shall be differentiated by adding lowercase letters after the date, e.g., (Silva, 2004a,b).

Personal communication can only be used if strictly necessary for the development or understanding of the study. Therefore, it is not part of the reference list, so it is placed only as a footnote. The author's last name and first and middle initials, followed by the phrase "personal communication", the date of notification, name, state and country of the institution to which the author is bound.

### 3.1.15. References section

References should be written on a separate page, and by alphabetical order of surname of author(s), and then chronologically.

Type them single-spaced, justified, and indented to the third letter of the first word from the second line of reference.

All authors' names must appear in the References section.

The author is indicated by their last name followed by initials. Initials should be followed by period (.) and space; and the authors should be separated by semicolons. The word 'and' precedes the citation of the last author.

Surnames with indications of relatedness (Filho, Jr., Neto, Sobrinho, etc.) should be spelled out after the last name (e.g., Silva Sobrinho, J.).

Do not use ampersand (&) in the citations or in the reference list.

As in text citations, multiple citations of same author or group of authors in the same year shall be differentiated by adding lowercase letters after the date.

In the case of homonyms of cities, add the name of the state and country (e.g. Gainesville, FL, EUA; Gainesville, VA, EUA).

Sample references are given below.

### Articles

The journal name should be written in full. In order to standardize this type of reference, it is not necessary to quote the website, only volume, page range and year. Do not use a comma (,) to separate journal title from its volume; separate periodical volume from page numbers by a colon (:).

Miotto, F. R. C.; Restle, J.; Neiva, J. N. M.; Castro, K. J.; Sousa, L. F.; Silva, R. O.; Freitas, B. B. and Leão, J. P. 2013. Replacement of corn by babassu mesocarp bran in diets for feedlot young bulls. *Revista Brasileira de Zootecnia* 42:213-219.

Articles accepted for publication should preferably be cited along with their DOI.

Fukushima, R. S. and Kerley, M. S. 2011. Use of lignin extracted from different plant sources as standards in the spectrophotometric acetyl bromide lignin method. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, doi: 10.1021/jf104826n (in press).

### Books

If the entity is regarded as the author, the abbreviation should be written first accompanied by the corporate body name written in full.

In the text, the author must cite the method utilized, followed by only the abbreviation of the institution and year of publication.

e.g.: "...were used to determine the mineral content of the samples (method number 924.05; AOAC, 1990)".

Newmann, A. L. and Snapp, R. R. 1997. *Beef cattle*. 7th ed. John Wiley, New York.

AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. 1990. *Official methods of analysis*. 15th ed. AOAC International, Arlington, VA.

### Book chapters

The essential elements are: author (s), year, title and subtitle (if any), followed by the expression "In", and the full reference as a whole. Inform the page range after citing the title of the chapter.

Lindhal, I. L. 1974. Nutrición y alimentación de las cabras. p.425-434. In: *Fisiología digestiva y nutrición de los ruminantes*. 3rd ed. Church, D. C., ed. Acríbia, Zaragoza.

### Theses and dissertations

It is recommended not to mention theses and dissertations as reference but always to look for articles published in peer-reviewed indexed journals. Exceptionally, if

necessary to cite a thesis or dissertation, please indicate the following elements: author, year, title, grade, university and location.

Castro, F. B. 1989. *Avaliação do processo de digestão do bagaço de cana-de-açúcar auto-hidrolisado em bovinos*. Dissertação (M.Sc.). Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Palhão, M. P. 2010. *Induced codominance and double ovulation and new approaches on luteolysis in cattle*. Thesis (D.Sc.). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brazil.

### Bulletins and reports

The essential elements are: Author, year of publication, title, name of bulletin or report followed by the issue number, then the publisher and the city.

Goering, H. K. and Van Soest, P. J. 1970. *Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures, and some applications)*. Agriculture Handbook No. 379. ARS-USDA, Washington, D.C., USA.

### Conferences, meetings, seminars, etc.

Quote a minimal work published as an abstract, always seeking to reference articles published in journals indexed in full.

Casaccia, J. L.; Pires, C. C. and Restle, J. 1993. Confinamento de bovinos inteiros ou castrados de diferentes grupos genéticos. p.468. In: *Anais da 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*. Sociedade Brasileira de Zootecnia, Rio de Janeiro.

Weiss, W. P. 1999. Energy prediction equations for ruminant feeds. p.176-185. In: *Proceedings of the 61th Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*. Cornell University, Ithaca.

### Article and/or materials in electronic media

In the citation of bibliographic material obtained by the Internet, the author should always try to use signed articles, and also it is up to the author to decide which sources actually have credibility and reliability.

In the case of research consulted online, inform the address, which should be presented between the signs < >, preceded by the words "Available at" and the date of access to the document, preceded by the words "Accessed on:".

Rebollar, P. G. and Blas, C. 2002. Digestión de la soja integral en ruminantes. Available at: <[http://www.ussoymeal.org/ruminant\\_s.pdf](http://www.ussoymeal.org/ruminant_s.pdf)> Accessed on: Oct. 28, 2002.

### Quotes on statistical software

The RBZ does not recommend bibliographic citation of software applied to statistical analysis. The use of programs must be informed in the text in the proper section, Material and Methods, including the specific procedure, the name of the software, its version and/or release year:

"... statistical procedures were performed using the MIXED procedure of SAS (Statistical Analysis System, version 9.2.)"

### 3.2. Structure of the article for short communication and technical note

The presentation of the title should be preceded by the indication of the type of manuscript whether it is a short communication or a technical note, which must be centered and bold.

The structures of short communications and technical notes will follow guidelines set up for full-length papers, limited, however, to 14 pages as the maximum tolerated for the manuscript.

Processing and publishing fees applied to communications and technical notes are the same for full-length papers, considering, however, the limit of four pages in its final form. A fee will be charged for publishing additional pages.

### 3.3. Additional guidelines for style and units – Use of percentage

Because of the intense use of units in percentage form (%), the Editorial Board of *Revista Brasileira de Zootecnia* defines that percentage should be exceptionally and seldom used only for description of relative variations (e.g., variation of a result obtained in a given treatment in relation to other treatment) and not as an absolute unit of measurement.

#### 3.3.1. Chemical or feed composition of diets

Chemical compositions of diets or feedstuffs have to be expressed as mass contents, e.g., g kg<sup>-1</sup> of dry matter or g kg<sup>-1</sup> as fed.

#### Examples:

Food composition of the concentrate mixture supplied to animals

Item	Incorrect (%)	Correct (g kg <sup>-1</sup> as fed)
Corn grain	70.0	700
Soybean meal	27.0	270
Urea	1.0	10
Mineral mixture	2.0	20

### Chemical composition of corn silage

Item	Incorrect (%)	Correct (g kg <sup>-1</sup> as fed)
Dry matter <sup>1</sup>	35.23	352.3
Organic matter <sup>2</sup>	95.45	954.5
Crude protein <sup>2</sup>	7.86	78.6
Ether extract <sup>2</sup>	2.35	23.5
Neutral detergent fiber corrected for ash and protein <sup>2</sup>	55.86	558.6
Non-fibrous carbohydrates <sup>2</sup>	29.38	293.8
Non-protein nitrogen <sup>3</sup>	32.45	324.5

<sup>1</sup> Incorrect: percent as fed. Correct: g kg<sup>-1</sup> as fed.

<sup>2</sup> Incorrect: dry matter percentage. Correct: g kg<sup>-1</sup> dry matter.

<sup>3</sup> Incorrect: total nitrogen percentage. Correct: g kg<sup>-1</sup> total nitrogen.

#### 3.3.2. Measures of intake

Measures of intake have to be expressed as mass consumed per mass unit per unit of time.

#### Example:

*Incorrect:* "... animals presented average intake of 2.52% of body weight..."

*Correct:* "... animals presented average intake of 25.2 g kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> of body weight..."

#### 3.3.3. Units expressed as coefficients

In animal science, it is common to produce variables given by the ratio between two variables. Therefore, because they represent direct measures made at the experimental unit and not relative comparisons among different situations (e.g., among treatments), those variables have to be expressed as mass unit per mass unit.

#### Most common examples:

##### *Measures of digestibility coefficients:*

*Incorrect:* "... the apparent digestibility coefficient of dry matter was 62.5%..."

*Correct:* "... the apparent digestibility coefficient of dry matter was 0.625..." (In this example, because it is a fractional measure, it is understood that it is expressed as g g<sup>-1</sup> or kg kg<sup>-1</sup>). Another possibility is to express it as 625.0 g kg<sup>-1</sup> of dry matter.

##### *Measures of fractions in degradation assays or body fraction yields or microbial growth*

*Incorrect:* "... estimate of potentially degradable insoluble fraction of protein was 36.2%..."

*Correct:* "... estimate of potentially degradable insoluble fraction of protein was 36.3 g/100 g..." Another possibility is to express it as 363.0 g kg<sup>-1</sup> of crude protein.

*Incorrect:* "...average carcass dressing was 52.1% of body weight..."

*Correct:* "...average carcass dressing was 52.1 kg/100 kg of body weight..."

*Incorrect:* "... a microbial yield efficiency of 12.53% in comparison with intake of total digestible nutrients..."

*Correct:* "... a microbial yield efficiency of 125.3 g of microbial protein per kg of total digestible nutrients..."

**Rates or variations over time in enzymatic measures or degradation assays or transit in the gastrointestinal tract**

*Incorrect:* "... passage rate of fibrous material in the rumen environment was 3.5%/h..."

*Correct:* "... passage rate of fibrous material in the rumen environment was 0.035 h<sup>-1</sup>..." The number of decimal places to be presented should not exceed four; otherwise use scientific notation, i.e., a × 10<sup>b</sup>, or change the scale of measurements.

**Coefficients of correlation and determination, and descriptive levels of probability**

Coefficients of correlation and determination, and levels of probability are fractions and should not be expressed as percentage.

*Incorrect:* "... the coefficient of determination of the model was 92.53%..."

*Correct:* "... the coefficient of determination of the model was 0.9253..."

*Incorrect:* "... variables were strongly correlated (r = -82.39%)..."

*Correct:* "...variables were strongly correlated (r = -0.8239)..."

*Incorrect:* "... α = 5%."

*Correct:* "... α = 0.05."

**3.3.4. Correct use of percentages**

As previously highlighted, percentage should be used only for description of relative variations. And it must be used with parsimony.

Example:

Table 1 - Serum urea nitrogen concentrations (SUN, mg dL<sup>-1</sup>) ... in grazing cattle

Item	Supplement <sup>1</sup>			CV (%)
	Control	Protein	Starch	
SUN	9.5b	14.3a	9.4b	7.8

<sup>1</sup> Means within rows followed by different letters are different by the Tukey test (P<0.05).

"...protein supplementation increased SUN concentration by 50.5% in relation to the control..."

**3.4. Additional guidelines for style and units – Representation of dispersion**

The clear, cohesive and correct representation of the results of a research paper is a key component of the characteristics that comprise comprehension, quality and reliability of the scientific publishing process.

However, the direct observation of the manuscripts submitted and the papers published by RBZ enlightens the plurality of the forms of exposure of the indicators of significance and dispersion (measures of uncertainty) of the results presented.

The Editorial Board of RBZ understands that the number of particularities in the form of exposing the results is directly proportional to the number of experimental designs and arrangements, as well as the number of statistical methods utilized.

Nevertheless, standard guidelines should and can be adopted by the authors in order to make the manner of exposure of the results more homogeneous. Thus, the guidelines presented below, which comprise the most common situations, must be followed by the authors for the correct establishment of the publishing style of Revista Brasileira de Zootecnia.

**3.4.1. About the representation of the descriptive levels of probability for type I error (P-value)**

Following the international trend of results exposure in research papers, the authors are recommended to present P-values from the statistical analyses to the readers, regardless of the critical level of probability adopted in the manuscript (α value). Whatever methods have been applied will not alter the discussion content at all. However, this makes the presentation of results more clear and allows the reader to make "judgments" on the results if they have a different view from that presented by the authors. Reference notes for significance (e.g., use of asterisks) should be avoided.

It is mandatory that the P-value be presented with three decimal places. It must not be displayed with 2 decimal places, for it can generate ambiguity of interpretation (e.g., let us suppose that one assumes α = 0.05. If two variables tested independently present P-values of 0.049 and 0.051, the rounding off for the two decimal places will make a P-value of 0.05 for both; however, one shows significant effect, whereas the other does not.)

3.4.2. About the critical level of probability (the  $\alpha$  value) adopted in the manuscript and the significance representation throughout the text

For the right discernment between significance and non-significance in hypothesis testing, according to the Neyman-Pearson school there is the need for establishing a (maximum) critical level of probability acceptable for type I error, from which the differences must be assumed as non-significant, most commonly known as " $\alpha$  value". This must be properly exposed at the end of the description of the statistical procedures, because it is part of the methods set for the research paper.

Example: "... $\alpha = 0.05$ ."

The choice of the  $\alpha$  value must be done during the experimental planning, considering the factors inherent to the environment and the experimental material and the natural variability of the response variables to be assessed at the assay. Although the  $\alpha$  value refers nominally to control of type I error, it must be pointed out that the probability of occurrence of type I and II errors commonly manifest antagonistically. Therefore, more strict  $\alpha$  values (e.g., 0.01) represent a great control of type I error, but may reduce the level of control of type II error. In this way, it is up to the researcher, after the proper experimental considerations, to define the priorities of control of the statistical errors in their conditions and to adopt the pertinent  $\alpha$  level.

If an author chose to make assertions about significance or no significance based on the previous choice of  $\alpha$ , the indication of significance must agree with that choice. For instance, let us take a study conducted with  $\alpha = 0.05$ . In this study, the analysis of variance showed a P-value of 0.019. When presenting this to the reader in the text, the author must utilize: "...a difference was observed ( $P < 0.05$ )."

For expressions in the text, use the letter P (capital letter), not in italic and without spaces. Example: "...intake increased ( $P < 0.05$ ), but there was no change in weight gain ( $P > 0.05$ )."

Additionally, for an RBZ's convention, the symbols  $\leq$  or  $\geq$  must not be used. Use only  $<$  or  $>$ . Do not use the form " $P = 0.XX$ ".

The basic theory of hypothesis testing shows us the fact that there are two, and only two, distinct regions under a distribution of probability when this is utilized in the test: acceptance region of  $H_0$  and rejection region of  $H_0$  (or region of no rejection of  $H_0$  and region of no acceptance of  $H_0$ , as some areas would rather use).

This leads us to the warning about two common mistakes involving the interpretation of significance: the use of the term "tendency" or "trend" and the qualification of significance (according to the Neyman-Pearson school).

To illustrate the first mistake, let us suppose that an author is conducting a research project in whose planning  $\alpha = 0.05$ . At the analyses, for one of the variables, a P-value of 0.061 was observed. Due to the proximity of this value to the  $\alpha$  value, the researcher presents in their text: "...for the X variable there was tendency for difference..."

Considering the summarized idea of tests and hypotheses presented previously, this type of argument is invalid, since there is no region of "tendency for acceptance of  $H_0$ " or "tendency for rejection of  $H_0$ ". Thus, the value of the statistics calculated can only be included in the regions of "rejection" or "not rejection" of  $H_0$ . In this sense, the proximity of the value to  $\alpha$  does not matter, contrarily to which region the statistics' calculated value suits.

Otherwise, to illustrate the second mistake, let us take a research paper in whose planning  $\alpha = 0.05$ . In this case, two variables presented at ANOVA, P-values of 0.035 and 0.002. Some may state that the first result is taken as significant, and the second as "highly" significant, which characterizes qualification. Again, there is the warning: the proximity between the values of P and  $\alpha$  does not matter. Hence, there are no "little", "very", "highly" or "poorly" significant results, but only significant or non-significant.

However, there is an increasing tendency among authors worldwide to commingle the Fisher school with the Neyman-Pearson school, i.e., to present significance level and compromise statistical precision with body of evidence in rejecting or not rejecting the null hypothesis. The Fisher school is based on body or strength of evidence, which means that the lower the P-value, the stronger the evidence. By body of evidence we mean that for some reason, such as some experimental conditions that could be controlled but were not, or some variable or variables that are known to interfere on treatment effects but were not dealt with for some particular reason (cost, rain, drought, etc.), a researcher is not forced to conclude in favor of the maintenance of the status quo simply because he (she) found  $P = 0.058$ . Therefore, we strongly suggest the presentation of the confidence intervals because they combine the magnitude of a treatment effect with the statistical precision and, as such, it circumvents the accept-reject dichotomy of the null hypothesis. Confidence intervals move us away from that dichotomy (Stang et al., 2010)<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Stang, A.; Poole, C. and Kuss, O. 2010. The ongoing tyranny of statistical significance testing in biomedical research. *European Journal of Epidemiology* 25:225-230.

The probability that a continuous random variable equals any one value is ZERO. That's why confidence intervals are built, because instead of making inference about the true value of a parameter, we are now interested in inferring that the true value of the parameter lies within some interval, i.e., the confidence interval. For all practical applications this means that estimates have to be given as the estimate of the mean plus or minus a certain amount (Mood et al., 1974)<sup>2</sup>. Therefore,

$$P\left[\bar{x} - t_{1-\alpha/2} \sqrt{s^2/n} < \mu < \bar{x} + t_{1-\alpha/2} \sqrt{s^2/n}\right] = 0.95$$

means that the probability that the random interval  $(\bar{x} - t_{1-\alpha/2} \sqrt{s^2/n}, \bar{x} + t_{1-\alpha/2} \sqrt{s^2/n})$  covers the unknown true mean  $\mu$  equals 0.95. The length of the interval is  $2t_{1-\alpha/2} \sqrt{s^2/n}$  and is dependent on sample size ( $n$ ) and sample variance ( $s^2$ ). The statistics  $t_{1-\alpha/2}$  is some statistics that could be computed from data and on the prior establishment of the significance level ( $\alpha$ ). Therefore, if authors want to present confidence intervals, they must previously define them. As possible examples we list:

"... the means were presented as

$$\bar{x} \left( \bar{x} - t_{1-\alpha/2} \sqrt{s^2/n}, \bar{x} + t_{1-\alpha/2} \sqrt{s^2/n} \right);$$

"... and confidence intervals for the means presented as  $\bar{x} \pm t_{1-\alpha/2} \sqrt{s^2/n}$ ."

There are statistical softwares that present confidence intervals as outputs, and in such cases, the length of the intervals presented can be calculated as the *upper* minus the *lower* limits of the confidence interval. Therefore, provided that the assumption about the distribution of errors holds true, for a given statistics computed from the data,  $t_{1-\alpha/2} \sqrt{s^2/n} = (\text{upper} - \text{lower}) / 2$ . For all cases reported above,  $s^2 = \text{RMS}$ , in which RMS is the residual mean square.

3.4.3. Suggestions of styles for the representation of P-values and dispersion indicators in Tables for the most common experimental designs and arrangements<sup>3</sup>

**Balanced experiments with qualitative treatments, conducted without the adoption of experimental arrangements, and considering homogeneous variances among treatments**

<sup>2</sup> Mood, A. M.; Graybill, F. A. and Boes, D. C. 1974. Introduction to the theory of statistics. McGraw-Hill Kogakusha, LTD., Tokyo.

<sup>3</sup> All the examples herein described are hypothetical. None of them was taken from real experimental situations.

In these situations, this form of table is recommended:

Table 1 - Voluntary intake of animals fed a diet with different energetic sources

Item	Energetic source <sup>1</sup>			P-value	CV (%)
	Alpha	Beta	Gamma		
	kg d <sup>-1</sup>				
Dry matter	6.301a	5.302b	5.892ab	0.036	5.3
...	g/kg of body weight				
Neutral detergent fiber	12.5a	10.4b	11.2b	0.045	4.8

<sup>1</sup> Means in the same row followed by different letters are different by the Tukey test ( $P < 0.05$ ).

In this example, the coefficient of variation (CV) is calculated as:

$$CV (\%) = \frac{\sqrt{RMS}}{\bar{Y}} \times 100$$

in which: RMS = residual mean square; and  $\bar{Y}$  = overall mean obtained from all the observations.

Although CV is widely adopted in Brazil, there is a trend for its replacement in the international journals by the standard error of the mean. This also shows as reality for the users of PROC MIXED of SAS, which does not compute CV values for ANOVA. If this is the option for the authors, the tables can be put together as:

Table 2 - Total digestibility coefficients (g g<sup>-1</sup>) of animals fed diets containing different energetic sources

Item	Energetic source <sup>1</sup>			P-value	SEM
	Alpha	Beta	Gamma		
Dry matter	0.605b	0.612b	0.669a	0.0172	0.035
...					

<sup>1</sup> Means in the same row followed by different letters are different by the Tukey test ( $P < 0.05$ ).

The standard error of the mean must be expressed with the same number of decimal places applied to the means, and can be represented in the table by the acronym "SEM" or by the notation  $S_x$ . For the specific case of this example, SEM is calculated as:

$$S_x = \frac{\sqrt{RMS}}{\sqrt{n}}$$

in which: RMS = residual mean square; and n = number of observations in each treatment.

It is important to emphasize that in case of supposition of homogeneous variances among treatments, only one indicator of variance must be presented; the indication of different standard errors to the different treatments is inconsistent with the presuppositions of the analyses.

**Balanced experiments balanced with qualitative treatments, conducted without the adoption of experimental arrangements and considering heterogeneous variances among treatments**

This type of experimental interpretation has become common with the evolution of the statistical software, especially with the utilization of PROC MIXED, from SAS. In this case, as different variances will be assumed among treatments, each treatment must be followed by its respective indicator of dispersion; in this case, the standard error may be used. Another possibility is to present the associated confidence intervals for treatment means.

Table 3 - Characteristics of the metabolism of nitrogen compounds in animals fed different protein sources

Item	Protein source <sup>1</sup>			P-value
	Omega	Pi	Kapa	
Serum urea nitrogen (mg dL <sup>-1</sup> )	12.35±1.36b	17.18±1.75a	18.54±0.98a	0.023

<sup>1</sup> Means in the same row followed by different letters are different by the Tukey-Kramer test (P<0.05).

We stress that the indicator of dispersion presented in Table 1 is inherent to the treatment's mean (thence the association by the symbol ±). In this case, the standard error is mandatory (standard deviation must not be used). The presentation of the confidence intervals may offer a rather comprehensive data description.

**Balanced experiments with quantitative treatments, conducted without the adoption of experimental arrangements and considering homogeneous variances among treatments**

The differences between quantitative treatments must not be interpreted by means of conventional tests of multiple comparisons (e.g., Tukey, LSD, Duncan, SNK, Dunnett). Utilize appropriate tests of multiple comparisons (e.g., The Williams test) or utilize regression models (linear or nonlinear).

A common and usually efficient form to interpret can be achieved by performing orthogonal decomposition of the sum of squares for treatments in contrasts associated with the different order effects (e.g., linear, quadratic, cubic, etc.). This decomposition can be done through the adjustment of equation of linear regression corresponding to the highest significant order effect<sup>4</sup>.

<sup>4</sup> When fitting the linear regression models, use the notation "r<sup>2</sup>" (lowercase) for functions with a single independent variable (e.g., simple linear) and "R<sup>2</sup>" (capital letter) for the functions with more than one independent variable or for polynomial models (e.g., quadratic).

In the case of orthogonal decomposition, it must be emphasized that experiments carried out with "p" levels (in the case above, four levels of additive in the diet; p = 4) provide evaluation of "p-1" order effects (in the example, p - 1 = 3; linear, quadratic and cubic).

The adoption of the maxim "models of cubic or superior order do not make sense" must be careful, and in some cases, this can distort the presentation and interpretation of results.

Example:

Table 4 - Performance characteristics of animals fed diets containing different levels of additive

Item	Additive (g kg <sup>-1</sup> of dry matter)				CV (%)	P-value <sup>1</sup>		
	0	3	6	9		L	Q	C
Intake (g) <sup>2</sup>	125	135	147	152	3.8	0.015	0.225	0.567

<sup>1</sup> L, Q and C - linear, quadratic and cubic effects, concerning the inclusion of additive in the diet.

<sup>2</sup>  $\hat{Y} = 125.8 + 3.10 \times X$  ( $r^2 = 0.976$ ).

In some cases where high-degree effects are not significant, one can proceed to its grouping in the interpretation of the experiment as "lack of fit", which can reduce the number of columns in the tables.

Example:

Table 5 - Performance characteristics of animals fed diets containing different levels of additive

Item	Additive (g kg <sup>-1</sup> of dry matter)					CV (%)	P-value <sup>1,2</sup>		
	0	3	6	9	12		L	Q	LF
Intake (g) <sup>3</sup>	125	135	147	152	161	4.1	0.032	0.359	0.603

<sup>1</sup> L and Q - effects of linear and quadratic order concerning the inclusion of additive in the diet.

<sup>2</sup> LF - lack of fit.

<sup>3</sup>  $\hat{Y} = 126.2 + 2.966 \times X$  ( $r^2 = 0.985$ ).

One example is shown in Figure 1, which simulates the interpretation of the concentration of rumen ammonia nitrogen as a function of the time after feeding. Observing the points equivalent to the average concentrations obtained in each period, it can be easily seen that the concentration of ammonia nitrogen rises up to the point of highest concentration more intensely than it declines after this point. So, at the interval evaluated, the elevation and reduction of the concentration of ammoniacal nitrogen are asymmetric in relation to the point of maximum concentration. The interpretation of this by a model of second degree (quadratic) implicitly assumes that elevation and reduction happen with the same intensity, i.e., symmetrically in relation to the point

of maximum concentration (which ends up distorting the location of the maximum point). In this case, as can be seen in Figure 1, the description is more coherent and logically done by function of the third degree (asymmetric in relation to the maximum point).

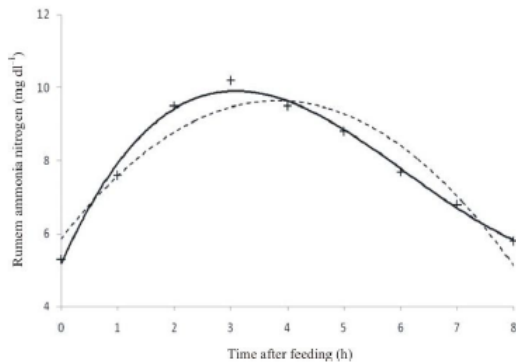


Figure 1 - Concentration of ruminal ammonia nitrogen as a function of the time after feeding (dashed line indicates quadratic function; continuous line indicates cubic function).

**Balanced experiments with qualitative treatments, conducted with the adoption of experimental arrangements and considering homogeneous variances among treatments**

The adoption of experimental arrangements (e.g., factorial, split plot) is common in experiments in the animal science area, and the information from their application must be adequately exposed to the reader.

As an example, in factorial arrangements the treatments are defined by the combination of the different levels (quantitative or qualitative) of the factors studied. They start to build the aim of studies in terms of their possible interaction or their direct (independent) effects, should they not interact with themselves, on the response variables. Hence, this piece of information (interaction and/or independent effects) must be presented coherently to the reader.

**Example:**

Table 6 - Voluntary intake in ruminants fed low-quality forage supplemented with nitrogen compounds and/or starch

Item	WN		N		SEM	P-value <sup>1</sup>		
	WS	S	WS	S		N	S	N × S
	g kg <sup>-1</sup> of body weight							
NDFap	11.2	10.5	12.8	12.0	1.1	0.003	0.046	0.485
...								

WN - without nitrogen compounds; N - with nitrogen compounds; WS - without starch; S - with starch; NDFap - Neutral detergent fiber corrected for ash and protein.

<sup>1</sup> N, S and N × S - effects of supplementation with nitrogen compounds, supplementation with starch and their interaction, respectively.

**3.5. Additional guidelines for style and units – Abbreviation**

The use of defined abbreviations and acronyms by the authors, especially for treatments, should be avoided. When necessary, the abbreviation should be defined the first time it is used in the summary (abstract) and again in the body of the manuscript.

There is no need to define symbols for chemical elements or simple compounds. Units of weights and measures conform to international standards; therefore it is incorrect to create new abbreviations.

Abbreviations in the titles and tables should be avoided. Long terms or expressions that aesthetically do not fit as written in tables should be spelled out as footnote of the table or figure.

*Example:* "Average contents of dry matter (DM), crude protein (CP), acid detergent fiber (ADF), neutral detergent fiber (NDF), ether extract (EE), mineral matter (MM), organic matter (OM), total carbohydrates (TC), non-fiber carbohydrates (NFC), and total digestible nutrients (TDN) of the ingredients of the experimental diets."

*Suggestion:* "Chemical composition of the experimental diets"

Do not start a sentence with an abbreviation, acronym or symbol.

*Wrong:* "TC is a parameter that influences the final quality of the silage."

*Suggestion:* Total carbohydrate composition influences the final quality of the silage.

The use of abbreviations and acronyms in the summary should be limited. Too many abbreviations in the text makes it aesthetically cluttered and impairs the comprehension. The description by using abbreviations is appropriate for the author, but difficult to interpret for the reader, who will need to stop reading to consult the descriptions in the text.

Units of measure are not abbreviated when they follow a number in full at the beginning of a sentence.

*Wrong:* 2 L of water were added to the contents for analysis (...)

*Suggestion:* Two liters of water were added (...)

All abbreviations are written as singular, although they can be plural in the context (VFA instead of VFAs).

Abbreviations are generally not permitted in either the title or conclusions.

## 3.5.1. Abbreviations

AA = amino acid  
 AAI = essential amino acid(s)  
 ACTH = adrenocorticotrophic hormone  
 ADDM = apparent digestibility of dry matter  
 ADF = acid detergent fiber  
 ADFI = average daily feed intake (differs from DMI)  
 ADG = average daily gain  
 ADIN = acid detergent insoluble nitrogen  
 ADL = acid detergent lignin  
 ADP = adenosine diphosphate  
 AI = artificial insemination  
 AIA = acid insoluble ash  
 AMP = adenosine monophosphate  
 ANOVA = analysis of variance  
 ATP = adenosine triphosphate  
 ATPase = adenosine triphosphatase  
 avg = average (use only in tables)  
 BCS = body condition score  
 BHBA =  $\beta$ -hydroxybutyrate  
 BLUE = best linear unbiased estimator  
 BLUP = best linear unbiased predictor  
 bp = base pair  
 BSA = bovine serum albumin  
 bST = bovine somatotropin  
 BTA = *Bos taurus* autosome  
 BUN = blood urea nitrogen  
 BW = body weight  
 CCW = cold carcass weight  
 cDNA = complementary deoxyribonucleic acid  
 CF = crude fiber  
 CI = confidence interval\*  
 CLA = conjugated linoleic acid  
 CN = casein  
 CoA = coenzyme A  
 Co-EDTA = Cobalt ethylenediaminetetraacetate  
 CP = crude protein  
 cRNA = complementary ribonucleic acid  
 CV = coefficient of variation\*  
 DCAD = dietary cation-anion difference  
 DE = digestible energy  
 df = degrees of freedom\*  
 DFD(meat) = dark, firm, and dry  
 DIM = days in milk  
 DM = dry matter  
 DMI = dry matter intake  
 DNA = deoxyribonucleic acid  
 DNase = deoxyribonuclease  
 EBV = estimated breeding value  
 eCG = equine chorionic gonadotropin  
 ECM = energy-corrected milk  
 EDTA = ethylenediaminetetraacetic acid

EE = ether extract  
 EFA = essential fatty acid  
 EIA = enzymeimmunoassay  
 ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay  
 EPD = expected progeny difference  
 ETA = estimated transmitting ability  
 FA = fatty acid  
 FCM = fat-corrected milk  
 FFA = free fatty acids  
 FSH = follicle-stimulating hormone  
 GAPDH = glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase  
 GC-MS = gas chromatography-mass spectrometry  
 GE = gross energy  
 GH = growth hormone  
 GHRH = growth hormone-releasing hormone  
 GLC = gas-liquid chromatography  
 GLM = general linear model  
 GnRH = gonadotropin-releasing hormone  
 h<sup>2</sup> = heritability\*  
 hCG = human chorionic gonadotropin  
 HCW = hot carcass weight  
 HEPES = N-2-hydroxyethyl piperazine-N'-ethanesulfonic acid  
 HPLC = high performance (pressure) liquid chromatography  
 HTST = high temperature, short time  
 i.d. = inside diameter  
 i.m. = intramuscular  
 i.p. = intraperitoneal  
 i.v. = intravenous  
 IFN = interferon  
 Ig = immunoglobulin  
 IGF = insulin-like growth factor  
 IGFBP = insulin-like growth factor-binding protein  
 IL = interleukin  
 IMI = intramammary infection  
 IR = infrared reflectance  
 IVDMD = *in vitro* dry matter disappearance  
 LA = lactalbumin  
 LD50 = lethal dose 50%  
 LG = lactoglobulin  
 LH = luteinizing hormone  
 LHRH = luteinizing hormone-releasing hormone  
 Lig = lignin  
 LM = *longissimus(dorsi)* muscle  
 LPS = lipopolysaccharide  
 LSD = least significant difference\*  
 LSM = least squares means\*  
 mAb = monoclonal antibody  
 ME = metabolizable energy  
 MEn = metabolizable energy corrected for nitrogen balance  
 MIC = minimum inhibitory concentration  
 ML = maximum likelihood  
 MP = adenosine monophosphate

MP = metabolizable protein	SCC = somatic cell count
mRNA = messenger ribonucleic acid	SCM = solids-corrected milk
MS = mean square*	SD = standard deviation*
mtDNA = mitochondrial deoxyribonucleic acid	SDS = sodium dodecyl sulfate
MUFA = monounsaturated fatty acids	SE = standard error*
MUN = milk urea nitrogen	SEM = standard error of the mean*
n = number of samples*	SFA = saturated fatty acids
NAD = nicotinamide adenine dinucleotide	SNF = solids-not-fat
NADH = reduced form of NAD	SNP = single nucleotide polymorphism
NADP = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	sp., spp. = one species, several species
NADPH <sub>2</sub> = reduced form of NADP	SPC = standard plate count
NAGase = N-acetyl-β-D-glucosaminidase	SS = sums of squares*
NAN = nonammonia nitrogen	SSC = sus scrofa chromosome
NDF = neutral detergent fiber	SSPE = saline-sodium phosphate-edta buffer
NE = net energy	ST = somatotropin
NEFA = nonesterified fatty acids	TCA = trichloroacetic acid
NEg = net energy for gain	TDN = total digestible nutrients
NEl = net energy for lactation	TLC = thin layer chromatography
NE <sub>m</sub> = net energy for maintenance	TMR = total mixed ration
NE <sub>m+p</sub> = net energy for maintenance and production	Tris = tris(hydroxymethyl)aminomethane
NE <sub>p</sub> = net energy for production	TSAA = total sulfur amino acids
NFC = nonfiber carbohydrates	UF = ultrafiltration, ultrafiltered
NPN = nonprotein nitrogen	UHT = ultra-high temperature
NRC = National Research Council	UV = ultraviolet
NS = nonsignificant*	VFA = volatile fatty acids
NSC = nonstructural carbohydrates	wt = weight (use only in tables)
o.d. = outside diameter	
OM = organic matter	
PAGE = polyacrylamide gel electrophoresis	<i>Physical units and other units</i>
PBS = phosphate-buffered saline	× = crossed with, times
PCR = polymerase chain reaction	°C = celsius (with number)
pfu = plaque-forming unity	μ (prefix) = micro
PG = prostaglandin	μCi = microcurie
PGF <sub>2α</sub> = prostaglandin F <sub>2α</sub>	μE = micro-einstein
PMNL = polymorphonuclear neutrophilic leukocyte	μF = microfarads
PMSG = pregnant mare's serum gonadotropin	μg = microgram
PSE = pale, soft, and exudative (meat)	μg kg <sup>-1</sup> = parts per billion
PTA = predicted transmitting ability	μL = microliter
PUFA = polyunsaturated fatty acids	amu = atomic mass unit
QTL = quantitative trait loci	atm = atmosphere
r = correlation coefficient*	bp = base pair
R <sup>2</sup> = coefficient of determination*	ca. = circa
RDP = rumen-degradable protein	cal = calorie
REML = restricted maximum likelihood	cc, cm <sup>3</sup> = cubic centimeter
RFLP = restriction fragment length polymorphism	cfu = colony-forming unit
RIA = radioimmunoassay	Ci = curie
RNA = ribonucleic acid	cm = centimeter
RNase = ribonuclease	cM = centimorgan
rRNA = ribosomal ribonucleic acid	cm <sup>2</sup> = centimeter, square
RUP = rumen-undegradable protein	cP = centipoise
s.c. = subcutaneous	cpm = counts per minute
	cps = counts per second
	CPU = central processing unit
	cu = cubic

\* Use generally restricted to tables and parenthetical expressions.

D = density  
 d = day(s)  
 Da = dalton  
 dL = deciliter  
 Eq = equivalents  
 g = gram  
 $g$  = gravity  
 h = hour(s)  
 ha = hectare  
 Hz = cycles per second (hertz)  
 IU = international unit  
 J = joule  
 K = Kelvin  
 k (prefix) = kilo  
 kb = kilobase  
 Kbp = kilobase pair  
 KB = kilobyte  
 kcal = kilocalorie  
 keV = kiloelectron volts  
 kg = kilogram  
 kPa = kilopascal  
 KU = Klett units  
 L = liter  
 ln = logarithm (natural)  
 log<sub>10</sub> = logarithm (base 10)  
 lx = lux  
 M (prefix) = mega  
 m (prefix) = milli  
 m = meter  
 M = molar (concentration)  
 mg kg<sup>-1</sup> = parts per million  
 min = minute(s)  
 mL = milliliter  
 mM = millimolar (concentration)  
 mm Hg = millimeters of mercury  
 mm<sup>3</sup> = cubic millimeter  
 mmol = millimole (mass)  
 mo = month(s)  
 mol = mole (number, mass)  
 n (prefix) = nano  
 N = Newton  
 N = normal (concentration)  
 ng = nanogram  
 p (prefix) = pico  
 P = probability  
 Pa = Pascal  
 pfu = plaque-forming unit  
 pg = picogram  
 rpm = revolutions per minute  
 RU = rennet activity unit  
 s = second(s)  
 U = unit

use lx = foot-candle  
 use mmol kg<sup>-1</sup> = osmolality  
 V = volt  
 vol = volume  
 vol vol<sup>-1</sup> (use parenthetically) = volume/volume  
 W = Watt  
 wk = week(s)  
 wt vol<sup>-1</sup> (use parenthetically) = weight/volume  
 yr = year(s)  
 Time: The 24h clock should be used, e.g.: 14.00 hours;  
 14.30 hours

#### 4. Guidelines to submit the manuscript

##### 4.1. The Manuscript Central™ online system

The journal editorial office of *Revista Brasileira de Zootecnia* is now using an online system, The Manuscript Central™, to manage the submission and peer review the manuscripts. Manuscript Central™ is a product of the ScholarOne® platform of Thomson Reuters (<http://scholarone.com/>).

Manuscripts are submitted online by accessing either the Journal page (<http://www.revista.sbz.org.br>) or by using the portal of the Scientific Electronic Library, SciELO at <http://www.scielo.br/rbz>. By doing so, author will find a logo of Manuscript Central™, <http://mc04.manuscriptcentral.com/rbz-scielo>.

User can access the author quick start guide by clicking the link in the top right corner of the page named Get Help Now.

Those who are not registered must proceed by Creating an Account. RBZ allows their users to create their own accounts. You will see a Create Account link in the top right corner of the page. Follow the step-by-step instructions for creating your account. To keep your account information current, use the Edit Account link in the upper right corner (Create Account changes to Edit Account after your account is created). You can also change your User ID and password here.

Please retain your new password information. Manuscript Central will not send your password via email. After completing the registration process, the user will be notified by e-mail and immediately will have the access to the author center and then submit a manuscript, if is the case.

#### 4.1.1. Authorship

The name and institutions of authors will be asked to be filled in the step 3 of the submission process, named Authors & Institutions; therefore it should not be presented in the body of the manuscript. The corresponding author should provide co-authors' information. Manuscript Central™ will help the corresponding author to check whether an author already exists in the journal's database, just by entering the author's e-mail address and clicking "Find." If the author is found, their information will be automatically filled out.

#### 4.2. The cover letter

It is expected that the corresponding author writes a letter that explains the reasons why the editor would want to publish your manuscript.

See an example of what should go in this letter:

- Inform the title of the manuscript and the last name of the author;
- Primarily it is important to emblazon the relevance of the subject studied in a concise manner.
- If there is any novelty on your work, please report this to the editor. It is also important to stress the originality of the research, if it is the case.
- What is the main finding of the study?

- Additional results but less relevant shall be mentioned then.

- What is the implication of the findings of the study?
- Inform the editor if there is any patent related to your study.
- If any part of this study has already been published, tell the editor that this is the case of preliminary result, or only partial. Also inform the location, the event and the date of such publication. Otherwise, state that this is an original study that has not been published either in part or as a whole.

In the step 5 (Details & Comments) the corresponding author will be asked to upload a file containing the **Cover letter**.

In that step 6 (File Upload) of the submission process the corresponding author will upload files.

Files that ought to be sent besides the Main body: Figures, Tables, and Acknowledgments should be sent as separated file and not as part of the body of the manuscript.

The corresponding author is responsible for obtaining the signatures of all coauthors and send the Assurance of contents and assignment of copyright. Manuscript will not be considered for peer reviewing without this form. The deadline will be set allowing a period of 15 days for delivery of forms after which the editorial office act by withdrawing.