

Eventos Técnicos & Científicos

e-ISSN 0000-0000



Fevereiro/2024

Anais

XXVII Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite

29 de agosto de 2023
Juiz de Fora, MG



Embrapa

Gado de Leite

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Gado de Leite
Ministério da Agricultura e Pecuária*

e-ISSN 000-0000

Eventos Técnicos & Científicos

002

Abril/2024

Anais

XXVII Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite

29 de agosto de 2023
Juiz de Fora, MG

*Embrapa Gado de Leite
Juiz de Fora, MG
2024*

Embrapa Gado de Leite
Rua Eugênio do Nascimento, 610 - Bairro Dom Bosco
36038-330 Juiz de Fora, MG
Fone: (32) 3311-7405
<https://www.embrapa.br/gado-de-leite>
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações

Presidente
Jorge Fernando Pereira

Secretário-executivo
Carlos Renato Tavares de Castro

Membros
Adilson Ferreira da Mota
Cláudio Antônio Versiani Paiva
Deise Ferreira Xavier
Edna Froeder Arcuri
Fausto de Souza Sobrinho
Fernando César Ferraz Lopes
Francisco José da Silva Ledo
Frank Ângelo Tomita Bruneli
Jackson Silva e Oliveira
Juarez Campolina Machado
Leovegildo Lopes de Matos
Luiz Ricardo da Costa
Márcia Cristina de Azevedo Prata
Marta Fonseca Martins
Pérsio Sandir D'Oliveira
Rui da Silva Verneque
Virgínia de Souza Columbiano
William Fernandes Bernardo

Supervisão editorial
Leônidas Paixão Passos, Carlos Renato Tavares de Castro, Rosângela Lacerda de Castro

Revisão de texto
Carlos Renato Tavares de Castro

Normalização bibliográfica
Rosângela Lacerda de Castro

Tratamento das ilustrações
Luiz Ricardo da Costa

Editoração eletrônica
Luiz Ricardo da Costa

Projeto gráfico da coleção
Luiz Ricardo da Costa

1ª edição
Publicação digital (2024): PDF

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Gado de Leite

Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite (27. : 2023 : Juiz de Fora, MG).

Anais do XXVII Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite - Pibic/CNPq 2023, Juiz de Fora, 29 de agosto de 2023 / Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2024.

PDF (137 p.) : il. color. - (Eventos Técnicos & Científicos / Embrapa Gado de Leite, e-ISSN 0000-0000 ; 002).

1. Iniciação científica. 2. Pesquisa científica. 3. Comunicação científica. 4. Evento. I. Passos, Leônidas Paixão. II. Título. II. Série.

CDD (21. ed.) 636.2082

Rosângela Lacerda de Castro (CRB-6/2749)

© 2024 Embrapa

Apresentação

Apresentamos os trabalhos expostos no XXVII Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite, realizado em 29 de agosto de 2023, no âmbito do programa Pibic CNPq, período 2022-2023. Foram 20 trabalhos, cobrindo áreas da ciência básica à ciência aplicada, focados em nossa missão institucional. O evento reuniu 78 participantes, representando 17 instituições parceiras. Torna-se, assim, evidente o interesse da comunidade de pesquisa dedicada direta ou indiretamente à bovinocultura leiteira na formação dos jovens cientistas. As apresentações orais e os recursos audiovisuais tiveram alta qualidade, ocasionando discussões produtivas no decorrer do evento.

A Embrapa Gado de Leite, sob a coordenação da Equipe de Apoio aos Estudantes e Bolsistas da Gerência de Gestão de Pessoas (GGP) da Embrapa, conduz anualmente o Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (Pibic) do Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). A presente oficina constituiu mais um encerramento de edição anual desse programa, e congregou orientadores, bolsistas e membros da comunidade técnico-científica, com a apresentação dos trabalhos de pesquisa realizados, cada qual seguida por discussões objetivas e direcionamento de estratégias.

Agradecemos ao CNPq pela oportunidade em podermos prestar mais esta contribuição para o desenvolvimento de futuras gerações de profissionais em pesquisa e desenvolvimento, em benefício da atividade leiteira do Brasil.

Temos assim, mais uma vez, o pleno cumprimento do objetivo central do PIBIC, de incentivar o pensamento científico e a iniciação à pesquisa de estudantes de graduação do ensino superior, contribuindo assim para a formação científica desses futuros profissionais.

Registramos nossos agradecimentos à Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) pela atuação nas comissões de organização e de avaliação do evento.

Os conteúdos dos resumos publicados são de inteira e exclusiva responsabilidade de seus autores e respectivos orientadores, ainda que reservado aos editores e ao Comitê Local de Publicações o direito de proceder a ajustes textuais e de adequação gráfica às normas da Embrapa.

Elizabeth Nogueira Fernandes
Chefe-Geral da Embrapa Gado de Leite

Sumário

Análise de dados de dispositivos IoT instalados em estábulo do tipo “Compost Barn”	5
Aplicativos e programas de processamento de imagem como ferramentas para a determinação da área foliar em capim setária	22
Bem-estar de vacas criadas em sistemas orgânicos de produção de leite.....	42
Biodigestão anaeróbica de dejetos bovinos: eficiência energética, população microbiana e remoção de hormônios	47
Desenvolvimento de aplicação para gestão da qualidade de registros de animais da raça Holandesa	53
Digestibilidade em bezerros leiteiros aos 28 dias de vida submetidos ao estresse térmico por calor e amplitude térmica	58
Efeito residual do estresse por amplitude térmica e estresse térmico por calor no desempenho e desenvolvimento corporal de bezerros leiteiros da raça Holandesa entre 30 e 90 dias de idade	63
Frequência de haplótipos letais e alelos ligados às doenças genéticas na raça Jersey no Brasil	73
Frequências alélica e genotípica para a característica Mocho e Beta Caseína na raça Jersey	78
Identificação de portadores das síndromes Brachyspina e deficiência do Fator XI em touros da raça Girolando	82
Mapeamento do declínio da produção de leite e da redução do consumo alimentar de vacas leiteiras em decorrência do estresse térmico no período de verão no Sudeste do Brasil	88
Monitoramento e avaliação da vegetação a partir de série de dados NDVI/MODIS	94
O estresse térmico por calor altera a saúde em bezerros leiteiros?	99
Parâmetros ruminais de bezerros da raça Holandesa submetidos a estresse térmico por calor e pela amplitude térmica até os 28 dias de idade	104
Preparação de nanoestruturas metálicas associadas a um peptídeo para a construção de biossensor	109
Produção de queijo artesanal em Alagoa: uma análise exploratória com Power BI	115
Resistência à Deois schach (Fabricius, 1787) em genótipos melhorados de Urochloa ruziziensis.....	122
Validação de um painel específico (Fingerprinting) para identificação da cultivar BRS Integra.....	127
Valor nutritivo da forragem de genótipos de capim-elefante anão submetidos a duas intensidades de desfolha	132

Análise de dados de dispositivos IoT instalados em estábulo do tipo “Compost Barn”

Marcelo de Melo Amorim Filho⁽¹⁾, Jailton da Costa Carneiro⁽²⁾, Wagner Arbex⁽³⁾, William Fernandes Bernardo⁽³⁾, Pedro Braga Arcuri⁽²⁾

⁽¹⁾Graduando em Ciência da Computação – UFJF, Juiz de Fora, MG, bolsista Pibic CNPq, e-mail: marcelodmeloamorim@gmail.com,

⁽²⁾Pesquisadores, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. e-mail: pedro.arcuri@embrapa.br, ⁽³⁾Analistas, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG.

Resumo- A convergência entre a Internet das Coisas (IoT) e o agronegócio, notadamente na pecuária, promove uma gestão ambiental mais precisa e uma produção mais eficiente. A IoT, interligando dispositivos por meio da internet, possibilita a coleta e troca de dados em tempo real, melhorando a qualidade de vida e a produtividade. A aplicação da IoT em estábulos tipo "Compost Barn" visa criar um ambiente saudável para o gado, impulsionando o bem-estar animal, produção de leite e sustentabilidade. O estudo em foco explora um dispositivo de IoT composto por um coletor modular de sinais (CMS) conectado a uma variedade de sensores comerciais. Esse dispositivo é capaz de coletar, processar e transmitir dados para uma base de dados específica, utilizando protocolos de internet. Os resultados obtidos demonstram uma confiabilidade encorajadora, com os dispositivos mostrando consistência e alta taxa de sucesso na coleta e envio de dados. Contudo, a análise também revela discrepâncias em determinados indicadores, sugerindo a necessidade de otimização contínua dos sensores e do sistema como um todo. Algumas divergências podem ser atribuídas a desafios específicos, como condições extremas de temperatura e umidade na cama de compostagem, que podem impactar os sensores. Isso indica que um refinamento constante da tecnologia é essencial para alcançar resultados ainda mais precisos e confiáveis.

Termos para indexação: alta precisão, análise de dados, compost barn, internet das coisas, sensores.

Data analysis from IoT devices located in a *Compost Barn*

Abstract- The convergence between the Internet of Things (IoT) and agribusiness, notably in livestock, promotes more precise environmental management and more efficient production. The IoT, interconnecting devices through the internet, enables the collection and exchange of data in real time, improving quality of life and productivity. The application of IoT in "Compost Barn" type stables aims to create a healthy environment for livestock, boosting animal welfare, milk production and sustainability. The study in focus explores an IoT device composed of a modular signal collector (CMS) connected to a variety of commercial sensors. This device is capable of collecting, processing and transmitting data to a specific database, using internet protocols. The obtained results demonstrated an encouraging reliability, with the devices showing guarantee and high success rate in the collection and sending of data.

However, the analysis also reveals discrepancies in certain indicators, suggesting the need for continuous optimization of the sensors and the system as a whole. Some deviations can be attributed to specific challenges, such as extreme temperature and humidity conditions in the compost bed, which can impact the sensors. This indicates that a constant refinement of the technology is essential to achieve even more accurate and eager results.

Index terms: compost barn, data analysis, high precision husbandry, internet of things, sensors .

Introdução

Tecnologias habilitadoras, exemplificadas pela Internet das Coisas, e diversos segmentos do agronegócio, vem sendo associadas com o objetivo de aumentar a precisão no monitoramento de ambientes e com isso melhorar sua gestão garantindo a redução do impacto ambiental, sua lucratividade e ainda o bem-estar dos produtores. Na pecuária, essas vantagens são somadas ainda ao bem-estar animal e à possibilidade de atender demandas dos consumidores.

A Internet das Coisas, designada pela sigla IoT (Internet of Things) em inglês, diz respeito à interligação de dispositivos, objetos físicos e sistemas por intermédio da internet, possibilitando a coleta, análise e intercâmbio de informações em tempo real. Ao interconectar dispositivos e viabilizar a comunicação entre eles, a IoT estabelece um ambiente inteligente e interativo, no qual os dados adquiridos podem ser aproveitados para aprimorar a eficiência, a produtividade e a qualidade de vida das pessoas.

No presente estudo, o dispositivo de IoT é composto por um coletor modular de sinais (CMS) conectado a sensores comerciais desenvolvidos para a mensuração de indicadores de parâmetros do ambiente. Por sua vez, o CMS é uma plataforma composta por um circuito integrado próprio, fonte de alimentação e bateria (opcional), que reconhece a origem de dados e os envia a uma base de dados específica via protocolo de internet.

O conceito de Compost Barn (Barberg et al., 2007) representa um estábulo para criação de gado bovino que oferece um ambiente mais saudável, confortável e que permite interações sociais entre os animais, garantindo com isso condições que promovem seu bem-estar, além de viabilizar a produção de leite de boa qualidade. Em contraste com os métodos convencionais de confinamento, o Compost Barn proporciona um espaço generoso para a movimentação dos animais, uma "cama" de composto orgânico macio e áreas específicas para alimentação e repouso. Essas características facultam às vacas maior liberdade de movimento, reduzindo o estresse e as limitações encontradas nos sistemas tradicionais. Ao oferecer um ambiente mais acolhedor e saudável, o Compost Barn promove o bem-estar animal, o que culmina em uma produtividade ampliada, melhor qualidade de vida para os animais e resposta às crescentes demandas por práticas sustentáveis e responsáveis na pecuária.

A sinergia entre essas duas esferas, ao integrar a IoT a um sistema de produção, caracteriza a pecuária de Alta Precisão. Na prática, essa união ocorre por meio da instalação de sensores ao longo do ambiente de um Compost Barn, permitindo, assim, a geração de

indicadores relacionados aos parâmetros de ambiente e bem-estar animal. Isso viabiliza a tomada de decisões mais embasadas, fundamentadas em tais parâmetros.

O objetivo deste trabalho é relatar o processo de geração dos dados, tratamento, análise e visualização daqueles obtidos por meio do IoT, durante o processo de co-desenvolvimento do dispositivo num projeto em parceria entre a Embrapa Gado de Leite e a startup “NeoThings IoT” de Minas Gerais, como parte do projeto intitulado “Desenvolvimento de dispositivo IoT para captação, transmissão e armazenamento de dados do ambiente e bem-estar e conforto animal em sistema de produção Compost Barn”, devidamente registrado no Sistema Embrapa de Gestão. Diante dos resultados apresentados a seguir, esta publicação vai ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, contribuindo para o alcance dos seguintes objetivos específicos: ODS 2: “Acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável; ODS 8: Empregos dignos e crescimento econômico: Promover o crescimento econômico sustentado, inclusivo e sustentável, emprego pleno e produtivo, e trabalho decente para todos; ODS 12: “Assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis”.

Material e métodos

O presente estudo foi realizado no estábulo do tipo “Compost Barn”, localizado no campo experimental José Henrique Bruschi em Coronel Pacheco e na sede da Embrapa Gado de Leite em Juiz de Fora – MG.

Foram utilizados sensores da empresa Honde Technology Company (<https://www.hondetechco.com>; Beijing, China), adquiridos pré-calibrados diretamente do fabricante, para os seguintes indicadores:

- Ambiente: Dióxido de Carbono (CO₂), Metano (CH₄), Amônia (NH₃), Oxigênio (O₂), Temperatura Ambiente, Umidade Relativa do Ar, Luminosidade, Ruído, P2.5 e P10 (Partículas), Velocidade e Direção do Vento;

- Cama de Compostagem (nos gráficos, apresentada como “soil”): Temperatura, Umidade, Condutividade Elétrica e Salinidade, pH Nitrogênio, Potássio, Fósforo;

Três configurações de energia para alimentação dos CMSs foram avaliadas: “Fonte”, “Bateria” e “Fonte + Bateria”. Por “Fonte” entende-se a conexão direta à rede elétrica, por meio do uso de uma fonte externa de alimentação, estabilizado com um nobreak. Por “Bateria”, entende-se uma bateria interna não recarregável que tornava intermitente o recebimento de dados dos sensores conectados. De forma similar, os CMSs do tipo “Fonte” e “Fonte + Bateria” operaram com intervalos de 10 minutos entre as mensurações.

O experimento principal do projeto em parceria constou da instalação no interior do estábulo de 18 CMS, sendo 2 do tipo “Bateria”, 5 do tipo “Fonte” e 11 do tipo “Fonte + Bateria”. Numa etapa posterior, da qual os resultados serão apresentados, todos os CMS foram deste último tipo. Três CMSs e um número variável de sensores foram instalados em 6 pontos uniformemente espaçados na área da cama de compostagem a partir de suportes instalados sobre os bebedouros. Os sensores de ambiente, a cerca de 2 m acima da cama de compostagem. Os sensores da cama de compostagem foram instalados na região central da área da cama de compostagem, isto é, a 5,5m de distância dos bebedouros e a

50 cm de profundidade. A instalação dos dispositivos IOT em suporte de madeira sobre um bebedouro está ilustrada na Figura 1.



Foto: Marcelo de Melo Amorim Filho

Figura 1. Instalação do dispositivo sobre o bebedouro.

O fluxograma para a obtenção automática dos dados, descrevendo a geração, coleta, envio e armazenamento dos dados está descrito na Figura 2. De acordo com o fluxograma, os dados gerados nos sensores eram coletados pelos CMSs que, utilizando um protocolo de internet denominado Broker MQTT, os encaminhava diretamente para a base de dados InfluxDB localizada na Nuvem, no domínio da empresa NeoThings IoT. A partir dessa base de dados, os dados poderiam ser direcionados para vários destinos, desde sites especializados em visualização de informações em series temporais, como a Plataforma Grafana utilizada para a geração dos gráficos que serão apresentados a seguir, quanto serem transformados em arquivos do tipo “.csv”, para utilização por outros aplicativos.

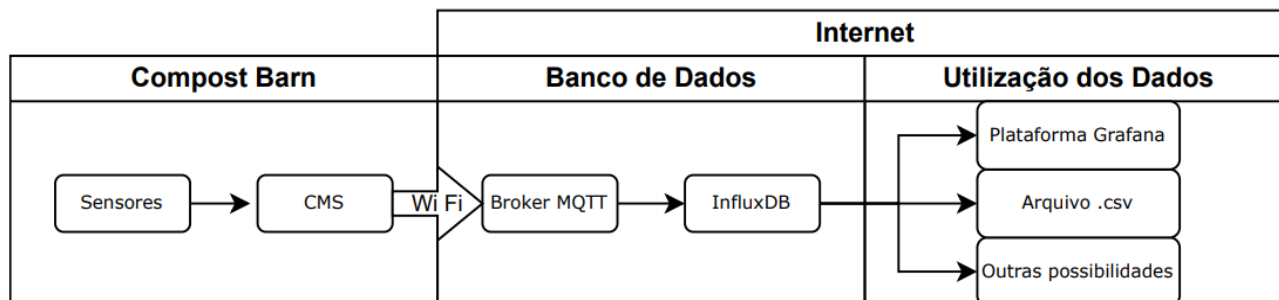


Figura 2. Fluxograma para a obtenção automática de dados

Para a validação dos valores dos dados gerados da forma descrita acima, equipamentos manuais, padrões, foram utilizados para coletar dados dos mesmos indicadores nas mesmas posições onde estavam instalados os sensores automáticos. A Figura 3 mostra os equipamentos padrões utilizados. Os valores foram comparados conforme mostram as Figuras 4 a 6 (ANEXO). Além disso, foram considerados os dados de temperatura ambiente e de umidade relativa do ar da estação meteorológica do INMET número A557 localizada no mesmo campo experimental.



Figura 3. Equipamentos utilizados para medições manuais, da esquerda para a direita: Termo Higo Anemômetro Modelo Thal-300; Termômetro Digital tipo “Espeto” de 23 Cm; Termopar.

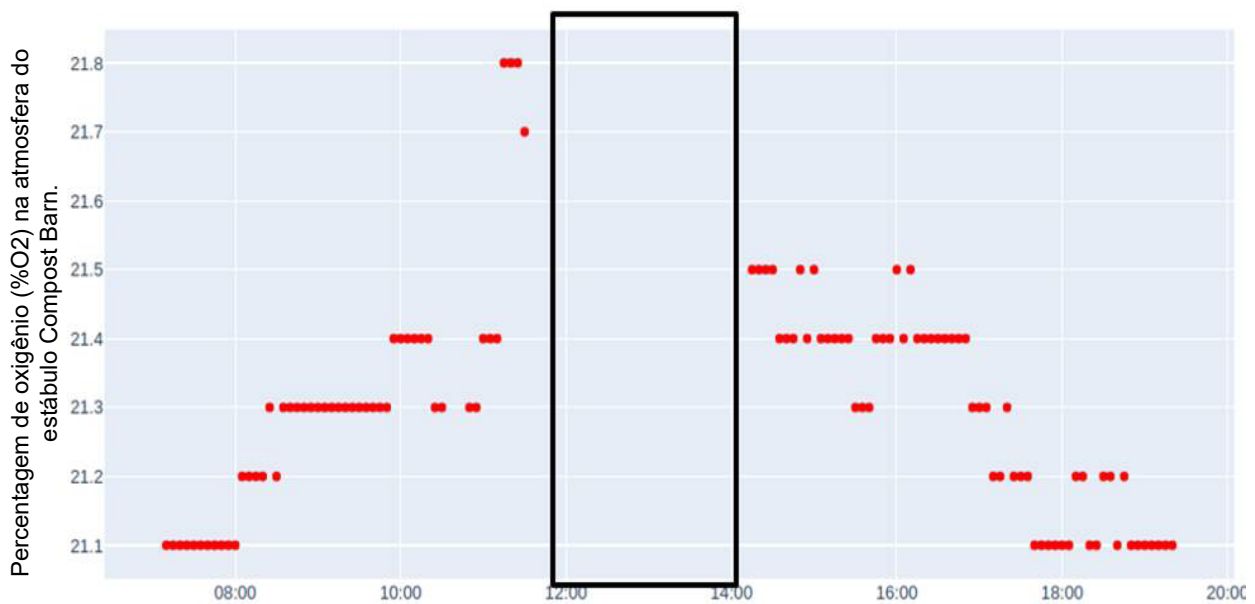
Para a análise dos dados, códigos em linguagem computacional Python foram criados por meio da ferramenta Jupyter Notebook. Foram realizadas as seguintes operações: eliminação de outliers; identificação de ausência de medições; pareamentos para comparações entre dados similares mensurados por aparelhos diferentes (ANEXO, Figuras 5 a 7).

Resultados e discussão

O dispositivo IoT foi avaliado quanto à frequência de registro dos dados, isto é, sua regularidade, ou seja, qual a porcentagem de tempo em que o dispositivo foi capaz de enviar dados para a base de dados citada, no intervalo de tempo estabelecido entre cada medição, seguindo a ordem descrita no fluxograma; em seguida, procedeu-se à validação dos dados do dispositivo, ou seja, o quão próximo da realidade são as informações recebidas.

Análise de regularidade do dispositivo

Quando o dispositivo recebe uma solicitação automática de envio de dados, mas devido a algum motivo específico o dado não é enviado, ocorre um valor vazio. No presente estudo, a ocorrência de valores vazios foi denominada “Ausência”. A Figura 8 ilustra um período de ausência de dados.



Horas do dia (h) 15 de agosto de 2023, utilizado para a coleta dos dados.

Figura 4. Gráfico de O₂ durante o dia 15/08/2023, com o período de ausência destacado no retângulo.

Ausências de dados podem ser decorrentes tanto de problemas de origem interna (defeito ou mau funcionamento do dispositivo), quanto de origem externa (queda de energia, interrupção da conexão à internet), ou até mesmo de origem física (cabos partidos, conexões malfeitas).

Para as ausências de origem interna, foram realizadas melhorias na configuração dos CMSs pela empresa NeoThings. Por outro lado, as ausências de origem externa são frequentes no meio rural brasileiro. No caso das interrupções no fornecimento de energia elétrica, a solução encontrada foi a reengenharia do circuito elétrico do CMS de modo a acomodar baterias Ion-Li recarregáveis. Para o caso das perdas de conexão com a internet, prevê-se para as próximas versões do CMS a instalação de chips de memória em seu circuito.

As ausências foram categorizadas arbitrariamente quanto à sua duração. Quando o período sem recebimento dos dados ultrapassava 4 horas, uma mensagem era enviada aos profissionais da Embrapa que estavam presentes no Compost Barn, questionando a interrupção de energia elétrica no local, ou a comunicação de algum outro evento. Em caso afirmativo, registrava-se o evento a fim de que posteriormente o intervalo sem dados pudesse ser descartado da análise. Dessa forma, os dispositivos puderam ser avaliados pela quantidade de dados enviada, dentro dos períodos em que as circunstâncias externas não estivessem afetando seu funcionamento.

Análise de validação dos dados

As Figuras 5 a 7 (ANEXO) apresentam respectivamente, os gráficos para os indicadores Temperatura Ambiente, Umidade Relativa do Ar, Temperatura da cama de compostagem e Luminosidade. Como pode ser observado, dados gerados pelos sensores em diferentes posições no Compost Barn e registrados a partir de diferentes CMSs apresentaram similaridade com os valores obtidos pelos métodos considerados padrão para cada indicador, conforme já descrito nesse documento.

Análise da confiabilidade do Dispositivo IoT

Para esta análise, foram elaborados gráficos de um mesmo indicador com dados de sensores instalados em cada um dos seis conjuntos. Um número menor de linhas num mesmo gráfico indica defeito ou quebra de um sensor ou de um CMS.

As Figuras 9 a 13 apresentam, respectivamente, os gráficos para indicadores Temperatura Ambiente, Umidade Relativa do Ar, Ruído, Direção e Velocidade do vento. Como pode ser observado, dados gerados pelos sensores em diferentes posições no Compost Barn e registrados a partir de diferentes CMSs apresentaram similaridade (a validação estatística ainda não foi realizada) com os valores obtidos pelos métodos padrão.

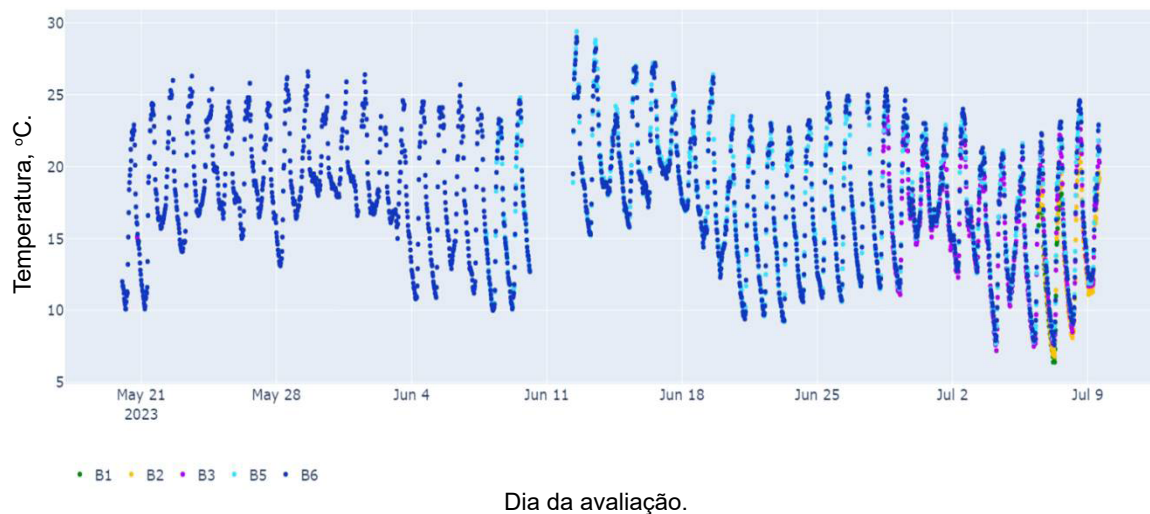


Figura 5. Comparação entre dados de Temperatura Ambiente registrados no interior do Compost Barn, no período de 21 de maio (May) a 9 de julho (Jul) de 2023. Pontos de cores diferentes indicam o registro de temperaturas por diferentes sensores.

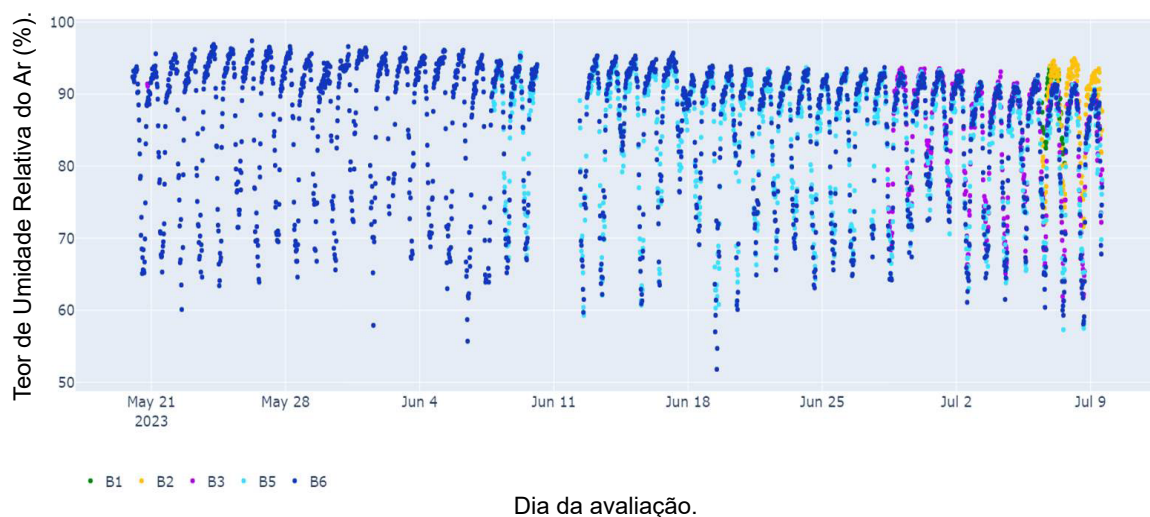


Figura 6. Comparação entre dados de Umidade Relativa do Ar registrados no interior do Compost Barn, no período de 21 de maio (May) a 9 de julho (Jul) de 2023. Pontos de cores diferentes indicam o registro de U.R. por diferentes sensores.

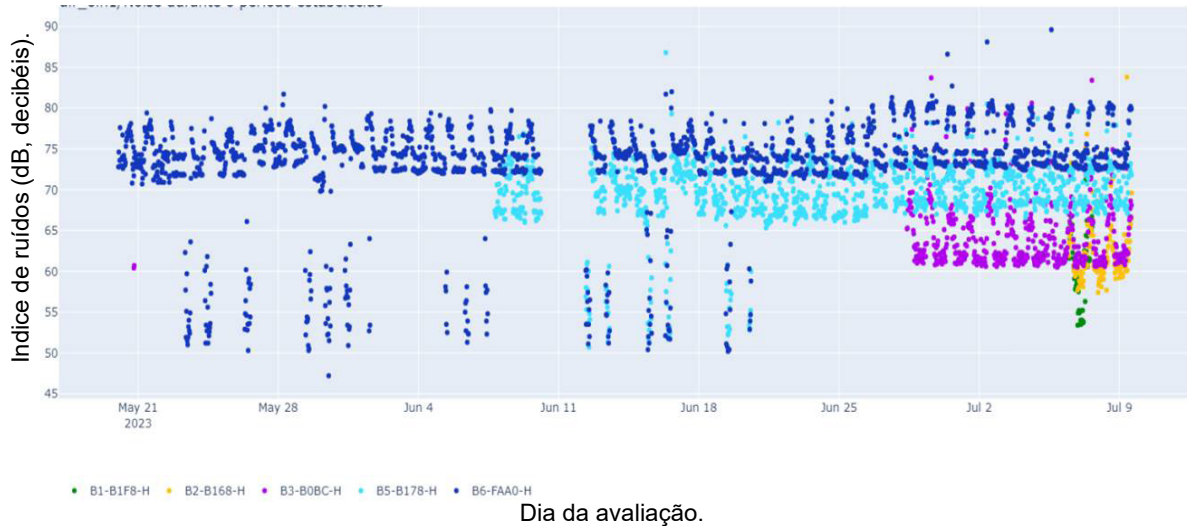


Figura 7. Comparação entre dados de Ruídos (Noise) registrados no interior do Compost Barn, no período de 21 de maio (May) a 9 de julho (Jul) de 2023. Pontos de cores diferentes indicam o registro de ruídos por diferentes sensores.



Figura 8. Comparação entre dados de Direção do Vento registrados no interior do Compost Barn, no período de 21 de maio (May) a 9 de julho (Jul) de 2023. Pontos de cores diferentes indicam o registro de direção do vento por diferentes sensores.

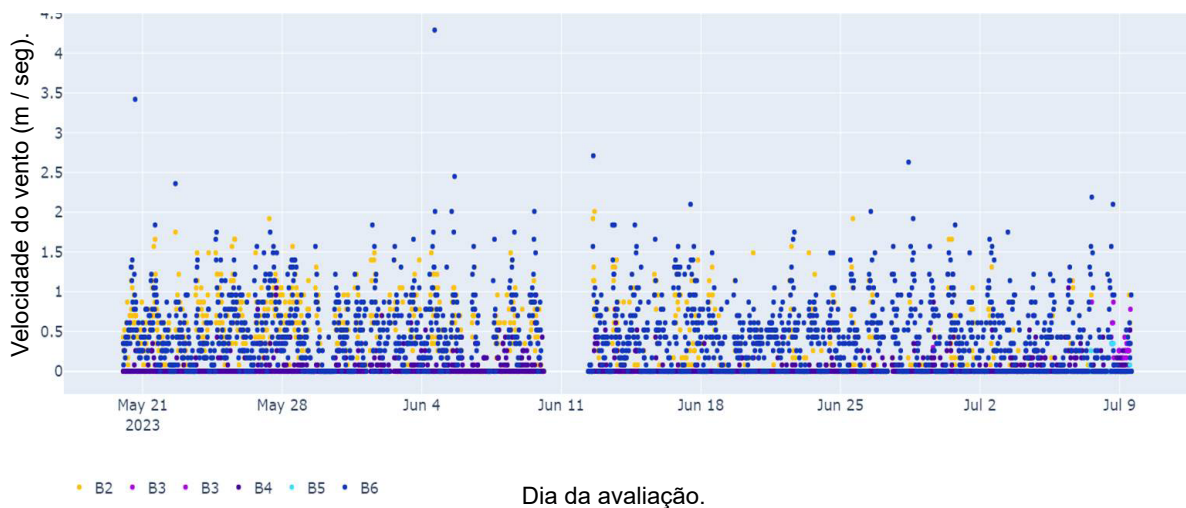


Figura 9. Comparação entre dados de Velocidade do Vento registrados no interior do Compost Barn, no período de 21 de maio (May) a 9 de julho (Jul) de 2023. Pontos de cores diferentes indicam o registro de U.R. por diferentes sensores.

Entretanto, para os outros indicadores avaliados no projeto, os valores obtidos pelo dispositivo apresentaram discrepâncias entre si quando foram comparados sensores diferentes registrando medidas para um mesmo indicador. As Figuras 10 a 27 apresentam os gráficos para os indicadores de ambiente O₂; NH₃; CH₄; CO₂; Partículas (P2,5 e P10), bem como os indicadores da cama de compostagem Umidade relativa, Salinidade, Condutividade elétrica, teores de Nitrogênio, Fósforo e Potássio e pH.

Os CMSs do tipo “Fonte” apresentaram ótimos resultados, com uma frequência de registro de dados acima de 99,93% nos intervalos de tempo estabelecidos para cada indicador. Por outro lado, os CMSs do tipo “Fonte+Bateria” apresentaram inicialmente resultados variados (Tabela 1) com alguns deles possuindo pelo menos um equipamento com mais de 90% de frequência de envio, enquanto outros não conseguiram enviar um único sinal durante o período estabelecido. A partir desses resultados, a empresa NeoThings redesenhou o circuito dos CMSs de modo a aumentar a frequência de registro de dados com o modelo “Fonte + Bateria”. Os CMSs foram então substituídos e todos passaram a apresentar frequências de registro de dados próximas a 100% (dados não apresentados).

Em relação à confiabilidade dos dispositivos IoT, e após consultas ao fabricante dos sensores por parte da empresa NeoThings, pode-se sugerir que os sensores, apesar de serem pré-calibrados pelo fabricante devem ser recalibrados no ambiente que serão usados, de acordo com protocolos do próprio fabricante, tendo em vista a necessidade de ajuste dos sensores às características específicas do ambiente do Compost Barn.

Cita-se como exemplo as elevadas temperaturas (50 °C ou superior) e umidades relativas (44% ou superior) da cama de compostagem, que podem interferir com a geração dos dados pelos sensores. Eventualmente, a substituição dos sensores utilizados por outros, adaptados às condições avaliadas, poderá ser uma alternativa para a empresa. Um exemplo dessa situação foram os dados registrados para o pH da cama de compostagem, que segundo o catálogo do produtor, deve estar em um ambiente com temperatura entre 0 A 55°, umidade entre 5 a 95% e faixa de medição entre 3 a 9.

Conclusões

Em relação aos CMSs, os dispositivos na configuração de energia “Fonte” e posteriormente “Fonte e Bateria” apresentaram ótima confiabilidade

Em relação aos sensores, foi identificada a necessidade de calibrações específicas, devido a discrepâncias encontradas entre dados colhidos por sensores de um mesmo indicador.

O dispositivo IoT avaliado mostrou-se confiável e com alto índice de repetibilidade dos dados, podendo ser considerado uma ótima alternativa para o monitoramento e apoio à tomada de decisão para ambientes em estábulos do tipo “Compost Barn”. Entretanto, devido às discrepâncias observadas entre dados de alguns indicadores avaliados, são necessárias mais pesquisas dentro dessa área a fim de aprimorar os tipos de sensores visando o aperfeiçoamento da tecnologia.

Agradecimentos

Meus mais sinceros agradecimentos à Embrapa e à equipe da Embrapa Gado de Leite que esteve comigo ao longo do período da bolsa concedida pelo CNPq, me guiando durante todo o projeto. Também agradeço à equipe da parceira NeoThings pela compreensão e ajuda durante as atividades.

O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil

Referência

BARBERG, A. E.; ENDRES, M. I.; JANNI, K. A. Compost dairy barns in Minnesota: a descriptive study. **Applied Engineering in Agriculture**, v. 23, n. 2, p. 231-238, 2007. DOI: <http://doi.org/10.13031/2013.22606>.

Literatura recomendada

CHAKRABORTY, M.; KUNDAN, A. P. Grafana. In: CHAKRABORTY, M.; KUNDAN, A. P. **Monitoring cloud-native applications: lead agile operations confidently using open source software**. Berkeley: Apress, 2021. p. 187-240. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4842-6888-9_6.

MQTT: the standard for OiT messaging. Disponível: <http://mqtt.org/>. Acesso em: 22 ago. 2023.

NAQVI, S. N. Z.; YFANTIDOU, S. **Time series databases and InfluxDB**. Disponível em: https://www.devopsschool.com/blog/wp-content/uploads/2022/09/influxdb_2017.pdf. Acesso em: 22 ago. 2023.

RANGLES, B. M.; PASQUETTO, I. V.; GOLSHAN, M. S.; BORGMAN, C. L. **Using the Jupyter Notebook as a tool for open science: an empirical study**. Disponível em: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/7991618>. Acesso em: 22 ago. 2023.

SANTOS, B. P.; SILVA, L. A. M.; CELES, C. S. F. S.; BORGES NETO, J. B.; PERES, B. S.; VIEIRA, M. A. M.; VIEIRA, L. F. M.; GOUSSEVSKAIA, O. N.; LOUREIRO, A. A. F. **Internet das coisas: da teoria à prática**. Disponível em: <https://homepages.dcc.ufmg.br/~mmvieira/cc/papers/internet-das-coisas.pdf>. Acesso em: 18 ago. 2023.



Figura 10. Comparação entre dados de Velocidade do Vento registrados no interior do Compost Barn, no período de 21 de maio (May) a 9 de julho (Jul) de 2023. Pontos de cores diferentes indicam o registro de U.R. por diferentes sensores.

Serie Temporal de Temperatura Ambiente

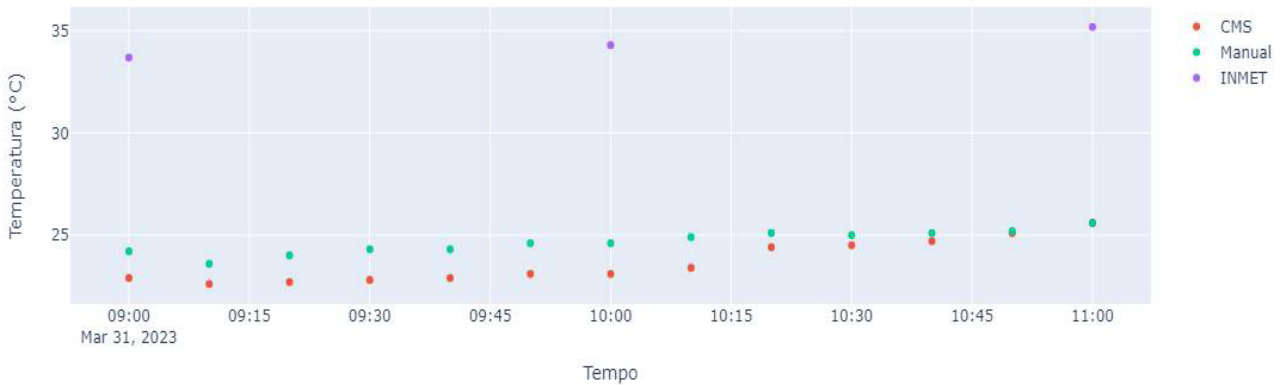


Figura 11. Comparação entre Umidade Relativa do Ar registrada por um CMS, pela mensuração manual (termômetros) e dados do INMET.

Serie Temporal de Temperatura do Solo

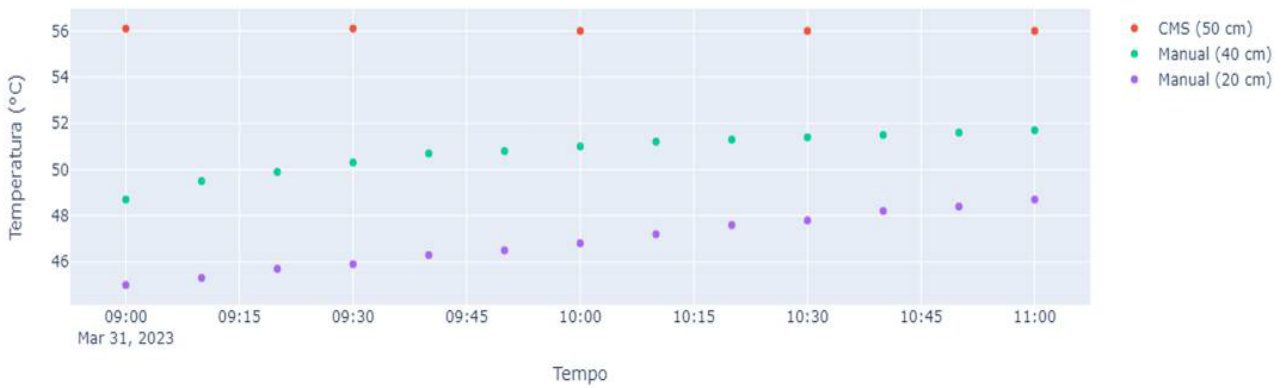


Figura 12. Comparação entre a Temperatura da cama de compostagem (no gráfico, “Solo”) registrada por um CMS e pelas duas mensurações manuais (termômetro e termopar).

Serie Temporal de Luminosidade

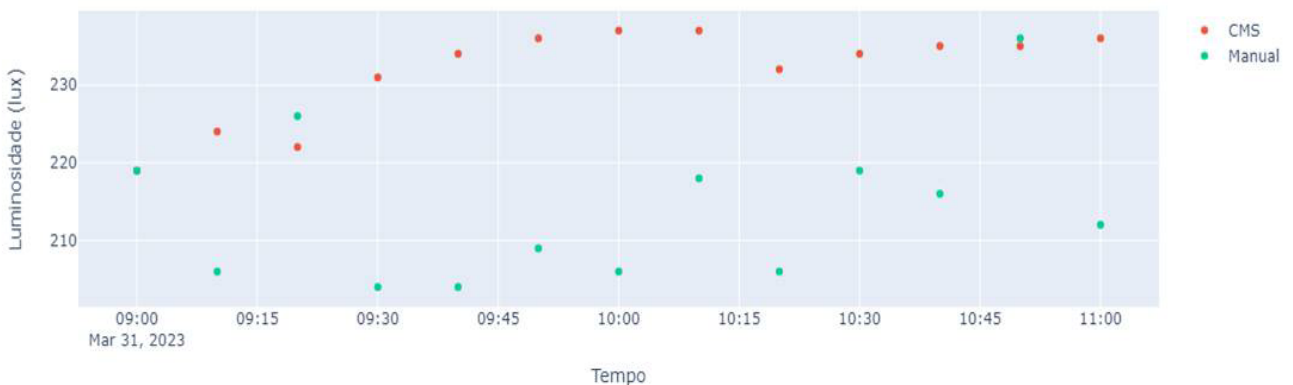


Figura 13. Comparação entre Luminosidade registrada por um CMS e pela mensuração manual

Tabela 1. Diagrama de eficiência de frequência dos CMSs instalados, para CMS de bateria, os valores são os mínimos obtidos.

Bebedouro	I.D. CMS	Equipamento	Frequência	
B1	0FEC	Velocidade Vento	Ausente	
		Direção vento	99,93%	
	6648	NPK	17,36%	
		Cama de compostagem 4 in 1	10,06%	
		pH	17,36%	
	B1C0	Ar Basic	Ausente	
		Ar Premium	Ausente	
B2	FA74	Velocidade Vento	99,93%	
		Direção vento	99,33%	
	1004	Cama de compostagem multicamadas	34,62%	
		Cama de compostagem 4 in 1	35%	
		pH	35,69%	
	B168	Ar Basic	Ausente	
		Ar Premium	99,93%	
		NPK	99,93%	
	B3	0FD4	NPK	99,93%
			pH	99,33%
B0BC		Cama de compostagem 4 in 1	9,30%	
		Ar Basic	9,16%	
		Ar Preimiun	9,16%	
30AC		Velocidade vento	Ausente	
B4		B0C8	pH	40%
			Ar Basic	40%
	Ar Premium		40%	
	0FF4	NPK	99,93%	
		Cama de compostagem 4 in 1	99,93%	
	F58C	Velocidade vento	99,93	
		Direção vento	99,93	
	B5	B178	Ar Basic	99,86%
			Ar Premiun	39,93%
			NPK	99,86%
		B1F8	Cama de compostagem 4 IN 1	96,45%
Cama de compostagem multicamadas			99,86%	
pH			99,88%	
ED58		Velocidade vento	Ausente	
	Direção vento	Ausente		
B6	FAA0	Ar Basic	98,86%	
		Ar Premiun	98,86%	
	0F50	NPK	100%	
		Cama de compostagem 4 in 1	100%	
	B1EC	pH	100%	
		Velocidade vento	91,87	

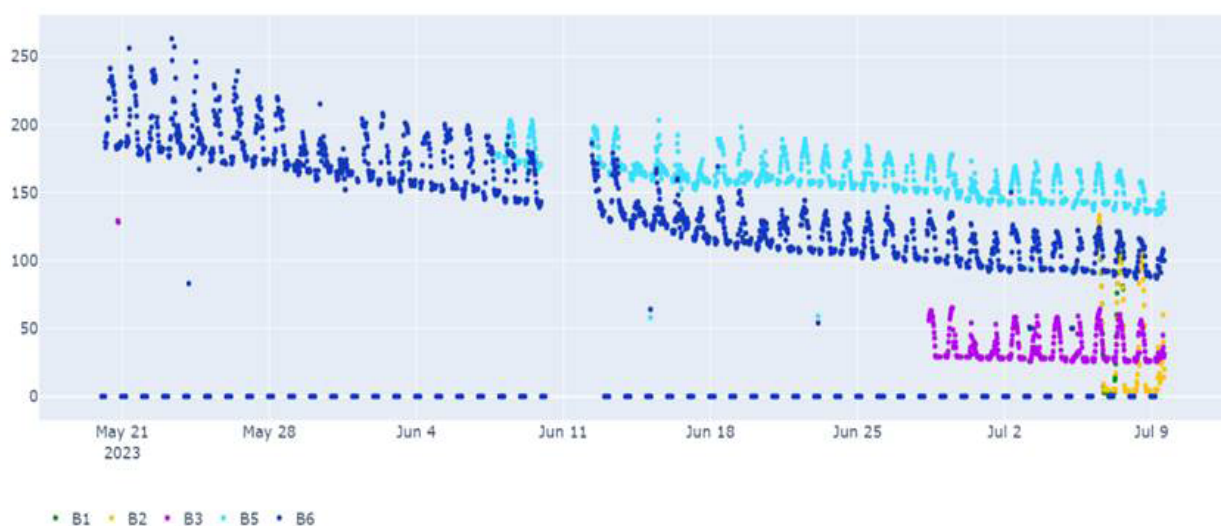


Figura 14. Comparação entre dados de Luminosidade captados por diferentes sensores no interior do Compost Barn, no período de 21 de maio (May) a 09 de julho (Jul) de 2023. B2 a B6 referem-se às posições relativas dos sensores, em relação aos bebedouros existentes no Compost Barn da Embrapa Gado de Leite.

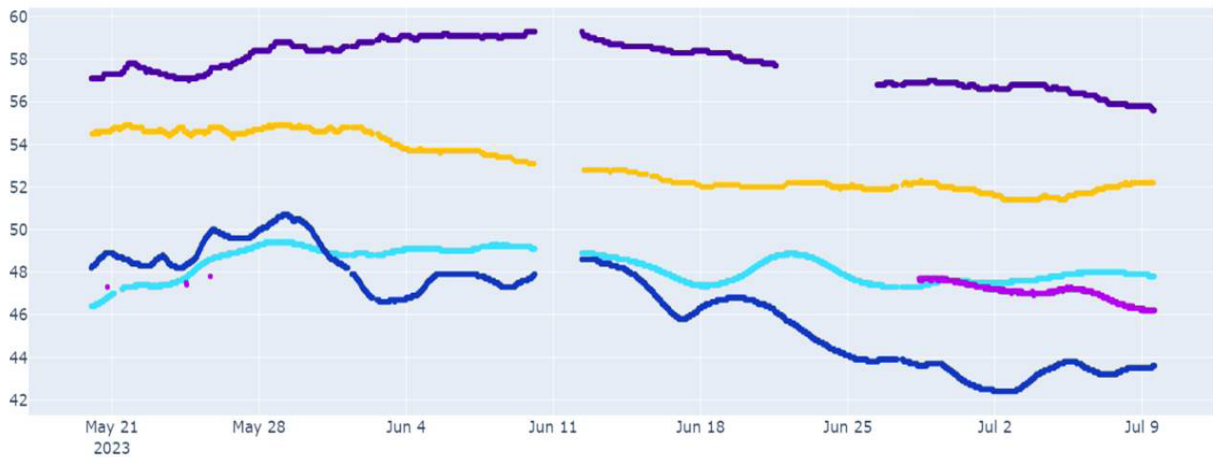


Figura 15. Comparação entre dados de Temperatura da cama de compostagem diferentes sensores no interior do Compost Barn, no período de 21 de maio (May) a 09 de julho (Jul) de 2023. B2 a B6 referem-se às posições relativas dos sensores, em relação aos bebedouros existentes no Compost Barn da Embrapa Gado de Leite.

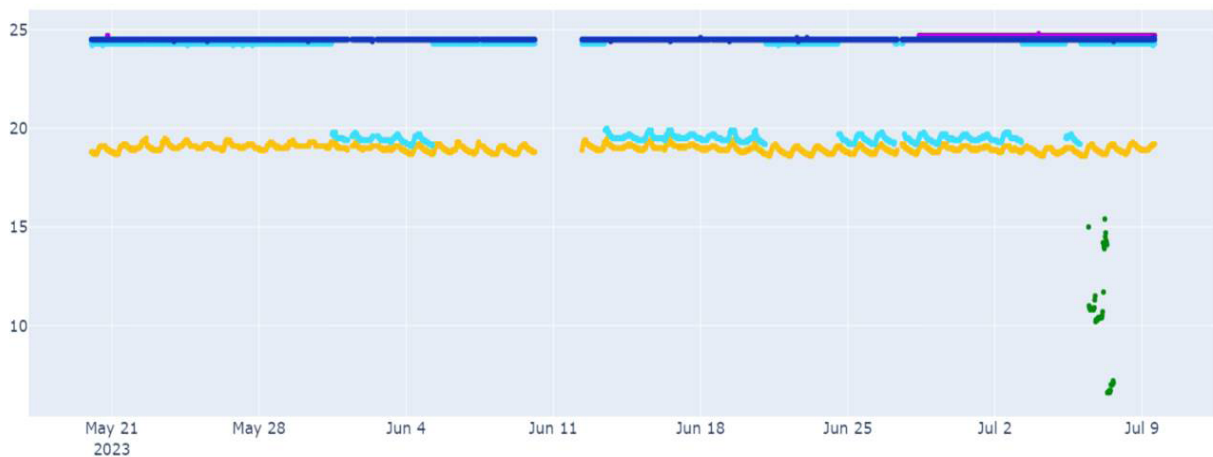


Figura 16. Comparação entre dados de O₂ no período de 21 de maio (May) a 09 de julho (Jul) de 2023. B2 a B6 referem-se às posições relativas dos sensores, em relação aos bebedouros existentes no Compost Barn da Embrapa Gado de Leite.

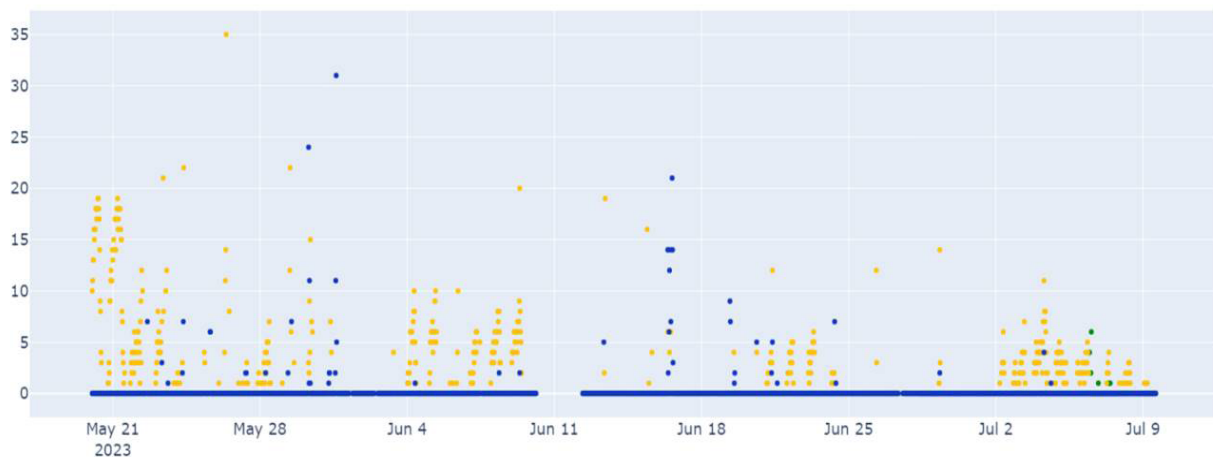


Figura 17. Comparação entre dados de NH₃ no período de 21 de maio (May) a 09 de julho (Jul) de 2023. B2 a B6 referem-se às posições relativas dos sensores, em relação aos bebedouros existentes no Compost Barn da Embrapa Gado de Leite.

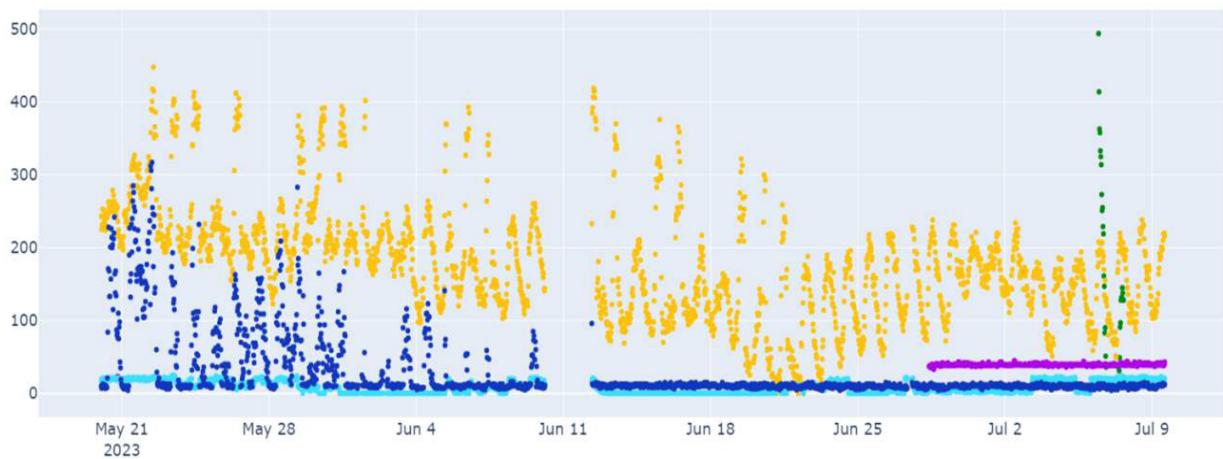


Figura 18. Comparação entre dados de CH4 no período de 21 de maio (May) a 09 de julho (Jul) de 2023. B2 a B6 referem-se às posições relativas dos sensores, em relação aos bebedouros existentes no Compost Barn da Embrapa Gado de Leite.

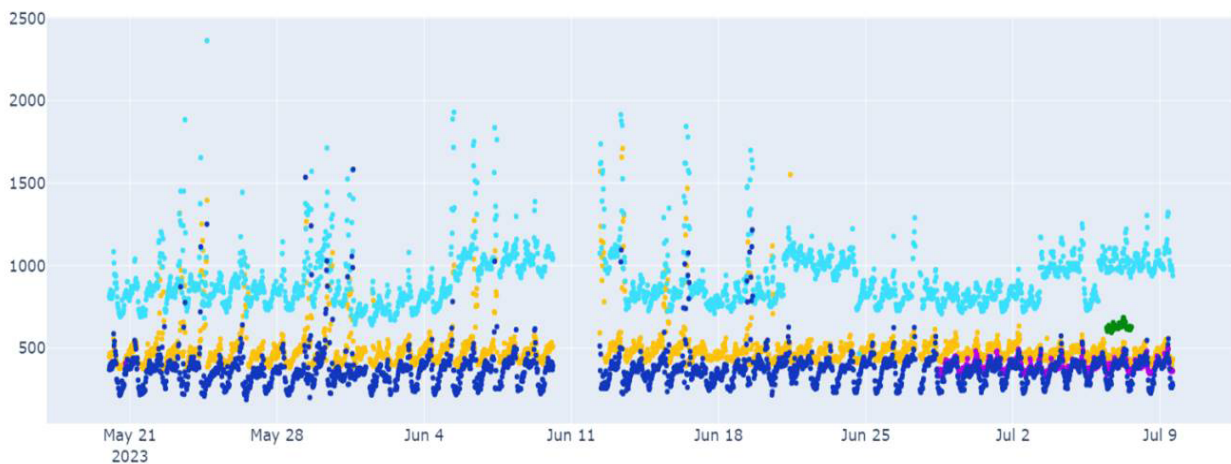


Figura 19. Comparação entre dados de CO2 no período de 21 de maio (May) a 09 de julho (Jul) de 2023. B2 a B6 referem-se às posições relativas dos sensores, em relação aos bebedouros existentes no Compost Barn da Embrapa Gado de Leite.

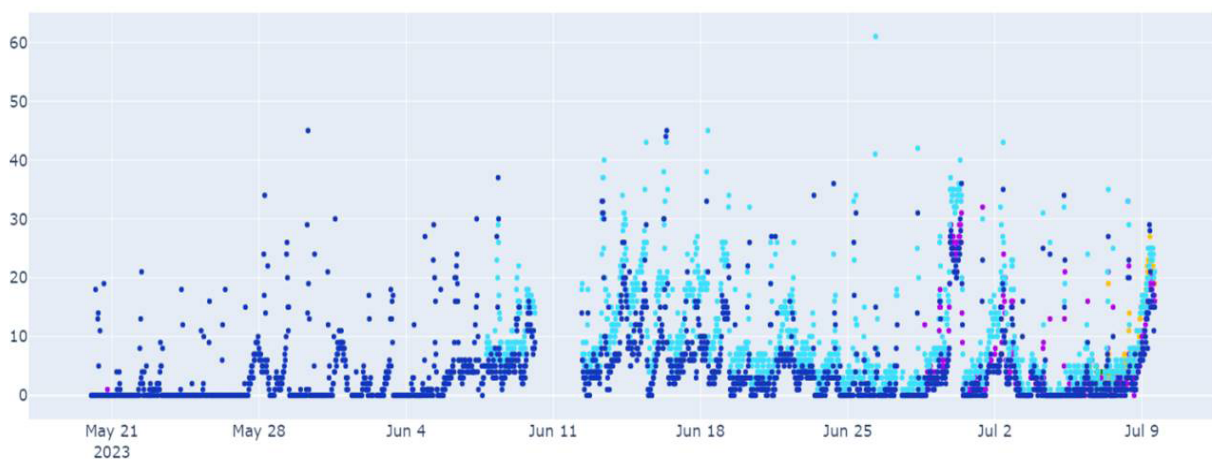


Figura 20. Comparação entre dados de partículas suspensas no ar de tamanho < 2,5micra (PM2.5) no período de 21 de maio (May) a 09 de julho (Jul) de 2023. B2 a B6 referem-se às posições relativas dos sensores, em relação aos bebedouros existentes no Compost Barn da Embrapa Gado de Leite.

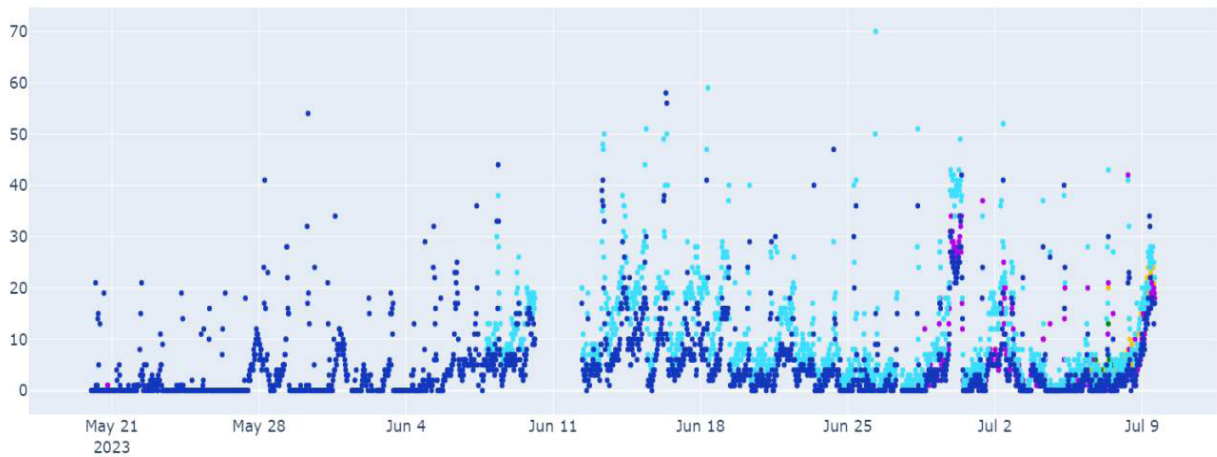


Figura 21. Comparação entre dados de partículas suspensas no ar de tamanho < 10 micra (PM10) no período de 21 de maio (May) a 09 de julho (Jul) de 2023. B2 a B6 referem-se às posições relativas dos sensores, em relação aos bebedouros existentes no Compost Barn da Embrapa Gado de Leite.

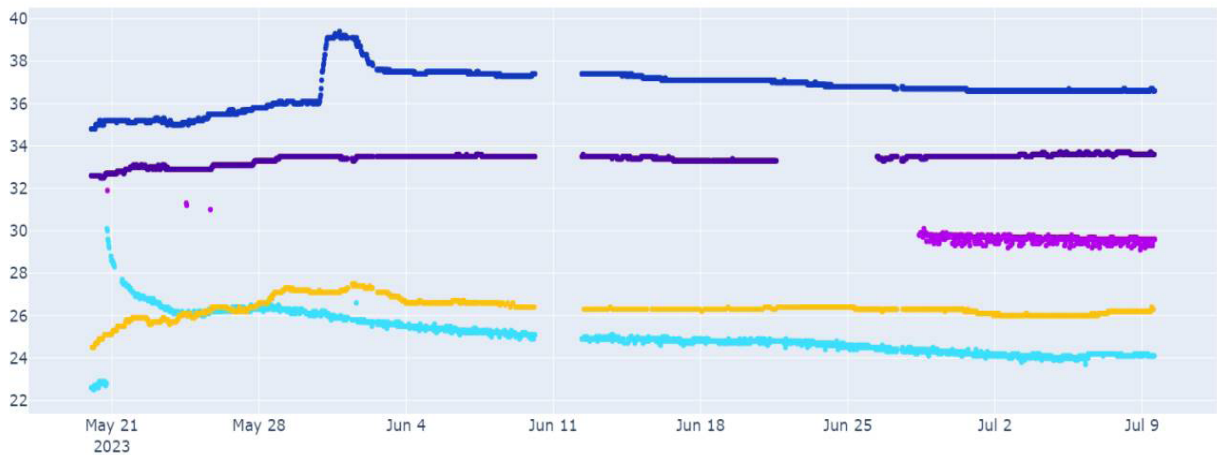


Figura 22. Comparação entre dados de Umidade da cama de compostagem no período de 21 de maio (May) a 09 de julho (Jul) de 2023. B2 a B6 referem-se às posições relativas dos sensores, em relação aos bebedouros existentes no Compost Barn da Embrapa Gado de Leite.

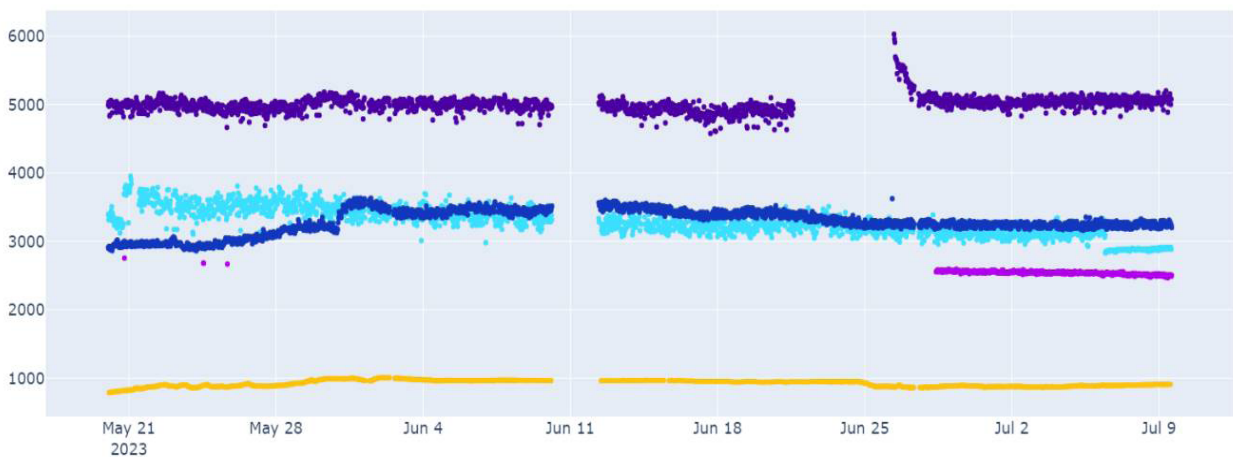


Figura 23. Comparação entre dados de Salinidade no período de 21 de maio (May) a 09 de julho (Jul) de 2023. B2 a B6 referem-se às posições relativas dos sensores, em relação aos bebedouros existentes no Compost Barn da Embrapa Gado de Leite.

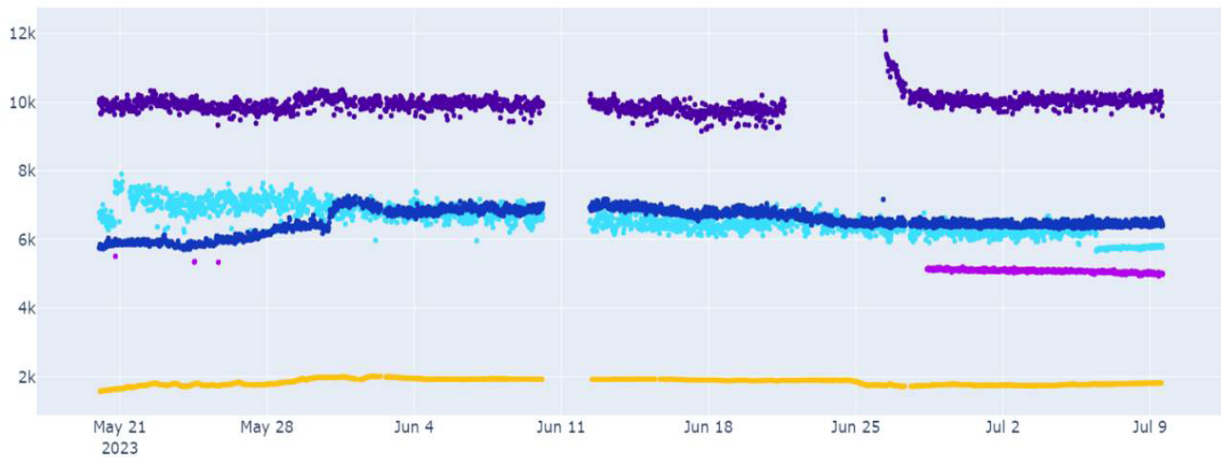


Figura 24. Comparação entre dados de Condutividade Elétrica no período de 21 de maio (May) a 09 de julho (Jul) de 2023. B2 a B6 referem-se às posições relativas dos sensores, em relação aos bebedouros existentes no Compost Barn da Embrapa Gado de Leite.

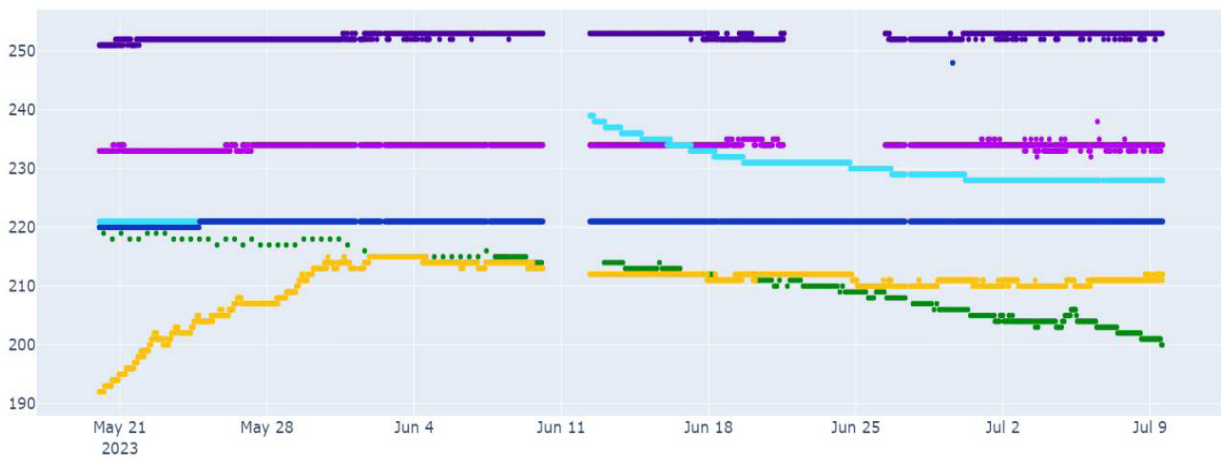


Figura 25. Comparação entre dados de Nitrogênio no período de 21 de maio (May) a 09 de julho (Jul) de 2023. B2 a B6 referem-se às posições relativas dos sensores, em relação aos bebedouros existentes no Compost Barn da Embrapa Gado de Leite.

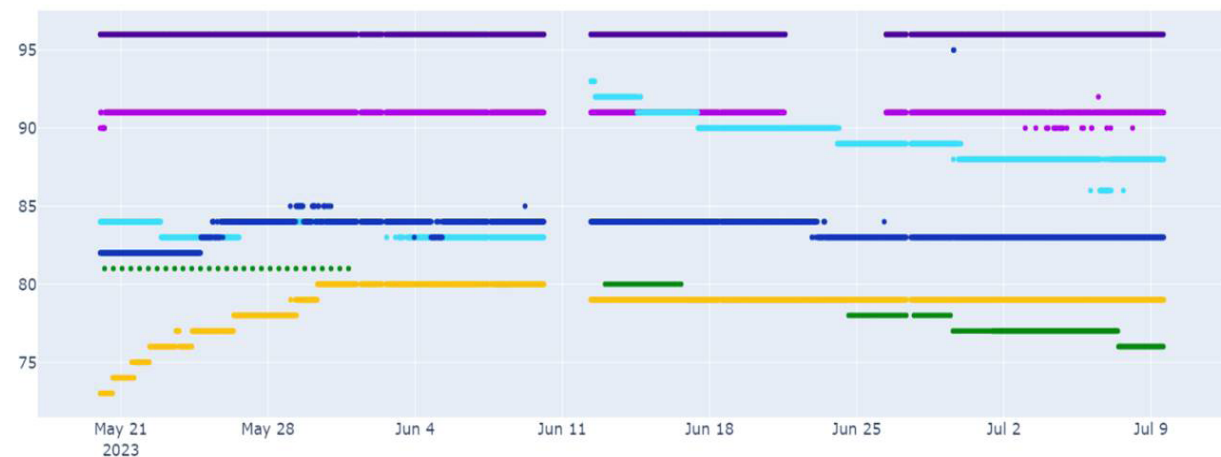


Figura 26. Comparação entre dados de Fósforo no período de 21 de maio (May) a 09 de julho (Jul) de 2023. B2 a B6 referem-se às posições relativas dos sensores, em relação aos bebedouros existentes no Compost Barn da Embrapa Gado de Leite.

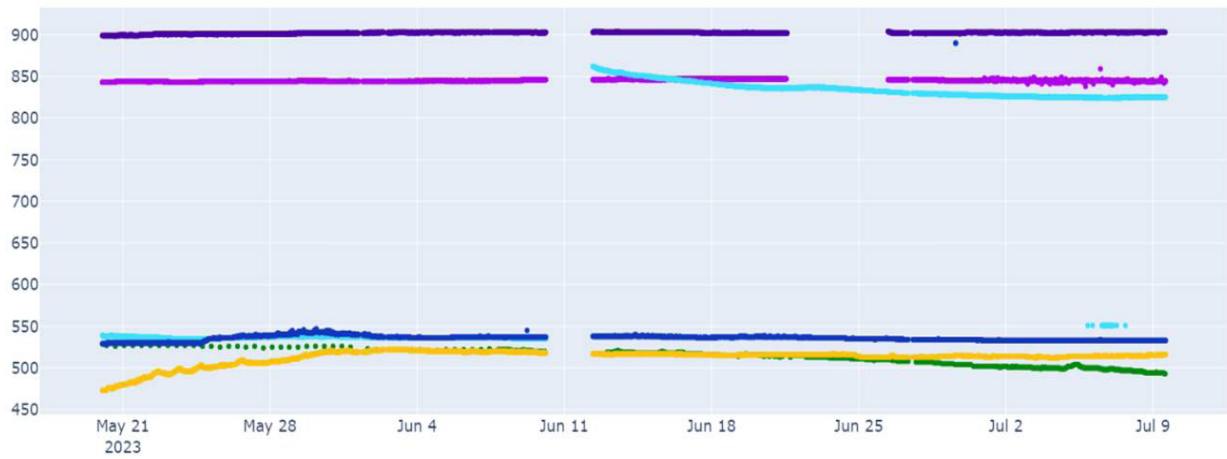


Figura 27. Comparação entre dados de Potássio no período de 21 de maio (May) a 09 de julho (Jul) de 2023. B2 a B6 referem-se às posições relativas dos sensores, em relação aos bebedouros existentes no Compost Barn da Embrapa Gado de Leite.

Aplicativos e programas de processamento de imagem como ferramentas para a determinação da área foliar em capim setária

Yara Beatriz Moreira⁽¹⁾, Julieta de Jesus da Silveira Castor⁽²⁾, Antônio Vander Pereira⁽³⁾, Juarez Campolina Machado⁽³⁾, Cristiano Amancio Vieira Borges⁽²⁾, Leônidas Paixão Passos^(3,4)

⁽¹⁾Graduanda em Engenharia da Produção – UFJF, Juiz de Fora, MG. Bolsista Pibic Fapemig. E-mail: yara.beatriz@engenharia.ufjf.br, ⁽²⁾ Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. E-mail: julieta.silveira@embrapa.br; cristiano.borges@embrapa.br, ⁽³⁾ Pesquisador, Embrapa Gado de Leite. e-mail: vander.pereira@embrapa.br; juarez.machado@embrapa.br, ⁽⁴⁾ Orientador. E-mail: leonidas.passos@embrapa.br

Resumo- A determinação da área foliar e medidas correlatas constitui um importante indicador na avaliação do crescimento e desenvolvimento de vegetais. Todavia, o custo relativamente elevado de equipamentos disponíveis para a medição direta dessa variável representa uma limitação para que o acesso a esse indicador se torne mais generalizado. Neste trabalho, objetivou-se utilizar aplicativos e programas de processamento de imagem para a medição da área foliar, visando substituir os aparatos existentes, conferindo assim redução de custos e maior mobilidade para a obtenção dessa categoria de dados. Para tanto, foram comparadas as determinações feitas com os aplicativos Canopeo, Digimizer e ImageJ, a partir de imagens fotografadas com câmera digital de alta resolução, em plantas de capim setária submetidas aos desafios de encharcamento e seca. Constatou-se que os três aplicativos são uma alternativa viável para substituir os medidores físicos. Os testes estatísticos revelaram que o Digimizer e o ImageJ, independentemente do cenário simulado, apresentaram maior concordância entre si. O Canopeo, por outro lado, apresenta maior facilidade e agilidade considerando situações com grandes diferenças de altura entre plantas e, tendo ainda a vantagem de ser aplicativo de smartphone, propiciando a aquisição da imagem e sua análise no mesmo aparato, resultando em maior mobilidade, rapidez e conforto no manuseio.

Termos para indexação: área foliar, Canopeo, Digimizer, ImageJ, fisiologia vegetal, *Setaria sphacelata*.

Image processing applications and programs as tools for determining leaf area in common setaria

Abstract- Determining leaf area and related measurements constitutes an important indicator in evaluating plant growth and development. However, the relatively high cost of the apparatuses available for direct measurement of this variable represents a limitation for the access to this indicator to become more widespread. The objective of this work was to use image processing applications and programs to measure leaf area, aiming to replace existing devices, thus providing cost reduction and greater mobility for obtaining this category of data. To this end, determinations made with Canopeo, Digimizer and ImageJ applications were compared, based on images photographed with a high-resolution digital

camera, on common setaria plants exposed to challenges of waterlogging or drought. Results indicate the three applications are a viable alternative to replacing physical meters. Statistical tests revealed that Digimizer and ImageJ, regardless of the simulated scenario, showed greater agreement between each other. Canopeo, on the other hand, allows greater ease and agility considering situations with large height differences among plants and, because it is a smartphone application, thus enabling image acquisition and analysis on the same device, resulting in greater mobility, rapidity of use and comfort in handling.

Index terms: Canopeo, Digimizer, ImageJ, leaf area, plant physiology, *Setaria sphacelata*.

Introdução

O monitoramento da área foliar é um indicador fisiológico importante para diversas avaliações agrônomicas, notadamente na produção de forragens. A área foliar pode ser calculada por métodos diretos e indiretos. Os métodos diretos tradicionais são mais precisos, porém têm as desvantagens de serem destrutivos e consumirem tempo, fatores estes que limitam seu uso em larga escala (Kaur et al., 2014). Uma alternativa tem sido os medidores comerciais de área foliar (Wilhelm et al., 2000), os quais utilizam diodos emissores de luz (LEDs) de banda estreita e detectores emparelhados no cabeçote de varredura. Os LEDs e os detectores registram a largura, enquanto o cabo de codificação registra o comprimento e, dessa forma, o instrumento calcula comprimento, largura e área a partir desses dados. O uso desses aparatos tem sido relativamente disseminado, mas eles têm elevado custo de aquisição e manutenção e causam, em vista do peso, desgaste ao usuário em medições prolongadas e na avaliação de plantios em áreas extensas. Para essas medições, em geral, os pesquisadores coletam um determinado número amostral de folhas, separam os limbos das demais partes, e então medem a área de cada folha para assim obterem a área foliar média ou a área foliar total por planta.

Por outro lado, métodos indiretos para estimar a área foliar têm sido utilizados com crescente frequência, com os benefícios de serem não destrutivos, propiciarem rápida execução e, portanto, serem viáveis para uso em larga escala (Baret et al., 2004). Esses métodos têm a vantagem adicional de permitirem o monitoramento da expansão foliar em uma dada planta ou conjunto de plantas ao longo do ciclo de crescimento, até a colheita. Nesse particular, aplicativos e programas de processamento de imagem têm sido utilizados de forma crescente e com alta repetibilidade em comparação com os medidores comerciais, destacando-se, recentemente, o Canopeo (Patrignani et al., 2015), o Digimizer (Carvalho et al., 2017) e o ImageJ (Santana et al., 2018). Esses três métodos produzem resultados altamente correlacionados ($r > 0,96$) com as determinações efetuadas com o aparelho LICOR em diferentes espécies vegetais, tais como o ImageJ em aveia (Martin et al., 2020) e jambolão (Farias et al., 2020), o Canopeo em soja (Shepherd et al., 2018), o Canopeo e o ImageJ em bluestem amarelo (XIONG et al. 2019), e o Digimizer em *Crotalaria* (Carvalho et al., 2017).

O programa de melhoramento genético de capim setária (*Setaria sphacelata* (Schumach.) Moss var. sericea (Strapf Clayton) da Embrapa Gado de Leite tem buscado a produção de indivíduos com características desejáveis para as condições brasileiras, dentre elas a tolerância conjunta à seca e ao encharcamento. Nessas abordagens, a rápida e precisa determinação da área foliar em populações recombinantes é uma necessidade

premente. Para tanto, a utilização de aplicativos e programas de processamento de imagem para a determinação da área foliar apresenta-se como alternativa promissora.

Dentro deste contexto, o objetivo do presente trabalho foi comparar aplicativo (Canopeo) e programas (Digimizer e ImageJ) disponíveis gratuitamente na Internet para a determinação da área foliar de capim setária cultivado em condições normais, sob seca ou sob encharcamento. Os resultados expostos a seguir vão ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, contribuindo para o alcance dos seguintes objetivos específicos: ODS 2 - Erradicação da fome: acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável; ODS 8 - Empregos dignos e crescimento econômico: promover o crescimento econômico sustentado, inclusivo e sustentável, emprego pleno e produtivo, e trabalho decente para todos.

Material e métodos

O experimento foi conduzido na Embrapa Gado de Leite em Juiz de Fora no Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia Vegetal. Foram germinadas as sementes de capim setária em recipientes de 200 mL contendo vermiculita e dispostos em uma câmara de crescimento sob condições climáticas (temperatura, U.R. e fotoperíodo) controladas. Após um período de aclimação, as plântulas foram distribuídas ao acaso para a aplicação dos tratamentos de encharcamento, seca e testemunha.

Após 90 dias as plantas foram submetidas às avaliações. Primeiramente, foi aferida a altura da maior planta, e mensurado o teor de clorofila (SPAD) das cinco maiores plantas. Em seguida, foi realizado o corte padronizado em 1/3 da altura da maior planta de cada pote, e realizadas as medidas de área foliar (AF) utilizando os aplicativos Canopeo (Oklahoma State University; aplicativo de *smartphone* com uso liberado após registro no portal), Digimizer (MedCalc Software Ltd., Bélgica; programa de computador com versão de avaliação por 30 dias) e ImageJ (National Institutes of Health, EUA; programa de computador de domínio público). As principais características de cada aplicativo estão apresentadas no Anexo 1. As instruções de trabalho (ITs) de cada aplicativo estão descritas, nos Anexos 2 (ImageJ), 3 (Digimizer) e 4 (Canopeo). Os dados de AF e área foliar total (AFT) foram importados e submetidos à análise estatística.

O estudo foi conduzido no delineamento inteiramente ao acaso, considerando um fatorial 3 (aplicativos) x 3 (tratamentos - seca, encharcamento e testemunha, condições normais de cultivo) e oito repetições. Cada parcela experimental foi constituída de um recipiente contendo 10 plantas.

Resultados e discussão

Os resultados das análises estatísticas estão apresentados na Figura 1 e na Tabela 1. Foi empregado, o teste t pareados pelo método de Bonferroni (Figura 1) o qual evidenciou maior concordância para o Digimizer e Image J em relação ao Canopeo. Portanto, nos estudos em que ocorrerem contrastes entre médias pouco discrepantes o Canopeo deve ser evitado. No entanto, nos casos, principalmente a campo, em que ocorrerem contrastes discrepantes, como é o caso da seleção fenotípica para caracteres quantitativos em populações segregantes, a praticidade permitida pelo Canopeo será fator importante para agilização do processo e ganho da precisão.

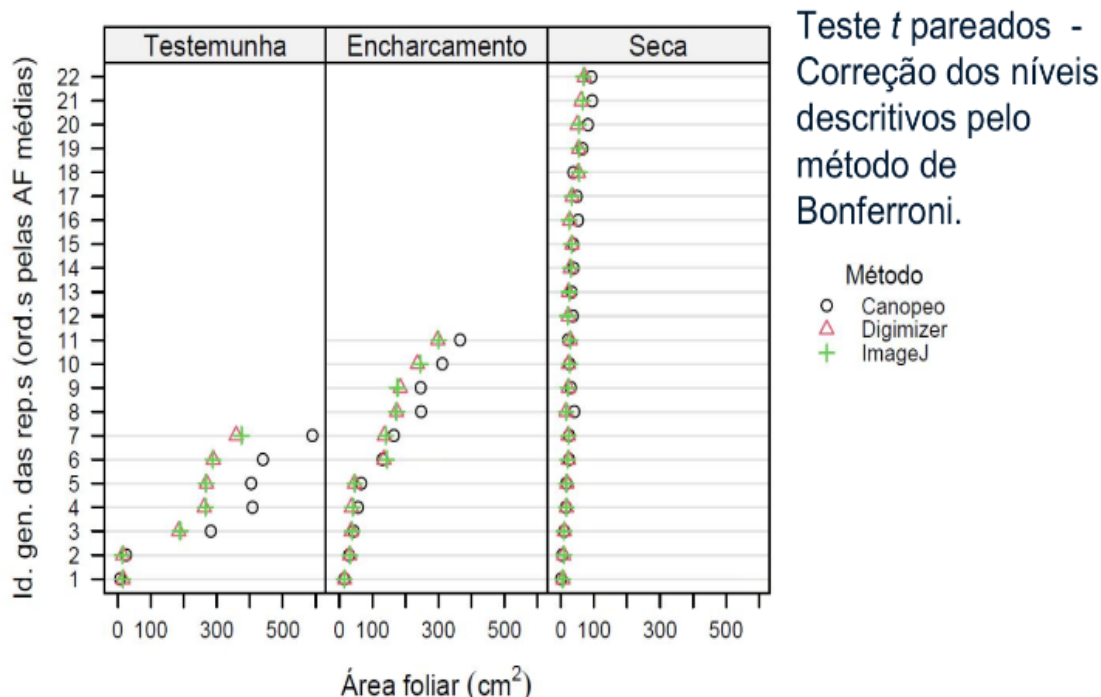


Figura 1. Teste t pareado dos tratamentos x aplicativos.

Tabela 1. Tabela comparativa do uso dos aplicativos em cada tratamento.

Comparação	Cond. ambiental	n	AFT Média (cm ²)	Viés* (cm ²)	Viés ** (cm ²)	IC _{95%} para viés (cm ²)		estat t	p valor original	p valor corrigido Bonferroni
						inferior	superior			
Canopeo x Digimazer	Normal	7	253,6	108,7	43%	30,9	186,4	3,42	0,014	0,042
	Encharcamento	11	136,7	31,5	23%	10	53	3,26	0,0085	0,026
	Seca	22	8,2	22	24%	2,4	14	2,95	0,0076	0,023
Canopeo x Image J	Normal	7	255,1	105,8	41%	31,9	179,7	3,50	0,013	0,038
	Encharcamento	11	137,7	29,4	21%	7,2	51,7	2,95	0,0015	0,044
	Seca	22	33,7	7,8	23%	2,1	13,4	2,87	0,0091	0,027
Digimazer x Image J	Normal	7	200,7	-2,9	-1,4%	-8,7	3,0	-1,20	0,28	0,83
	Encharcamento	11	121,9	-2,1	-1,7%	-5,4	1,2	-1,39	0,19	0,58
	Seca	22	29,6	-0,4	-1,4%	-1,3	1,5	-0,95	0,36	1

* Média das diferenças par a par, do primeiro aplicativo em relação ao segundo.

** Viés expresso em % da AFT média, supondo viés fixo.

Verifica-se (Tabela 1) que o Canopeo reportou medidas de área foliar total (AFT) em torno de 40% maiores, em média, do que o Digimazer e o ImageJ, quando sob condições normais (testemunha), e em torno de 20% maiores quando as plantas foram estressadas por "encharcamento" ou por "seca". Já entre o Digimazer e o ImageJ, em qualquer dos três cenários simulados, o viés foi não significativo ($p > 0,57$), não tendo ultrapassado, em média, a 1,5%.

Os resultados indicam que é possível a substituição do LI-COR por qualquer um dos softwares utilizados neste trabalho, confirmando estudos anteriores realizados com outras espécies (Patrignani et al., 2015; Carvalho et al., 2017; Santana et al., 2018; Shepherd et al., 2018; Farias et al., 2020; Martin et al., 2020). Em relação ao uso rotineiro, o que diferencia um aplicativo do outro é o tempo de processamento e a praticidade. O Canopeo se mostrou eficaz neste sentido, pois calcula a porcentagem de área coberta de forma

instantânea enquanto os demais demandam mais tempo para executar o cálculo da área. Desta forma, se o trabalho for a campo recomenda-se aplicativo Canopeo, pois o mesmo permite aferir em tempo real e é o mais prático. Já para trabalhos que exigem posteriores análises no computador das imagens digitais, o ideal é a utilização do ImageJ e Digimizer. No anexo I encontra-se o quadro comparativo entre os aplicativos em que se percebe que entre os três aplicativos o mais eficiente é o Canopeo.

Conclusões

Independentemente do cenário simulado, os aplicativos Digimizer e ImageJ mostram maior concordância entre si e menor com o Canopeo. No entanto, o Canopeo apresenta maior praticidade e agilidade durante o uso para contextos em que há grande discrepância de altura entre as plantas, podendo ser utilizado tanto para trabalhos feitos em tempo real, no campo, quanto para trabalhos posteriores utilizando o computador, diferentemente do Digimizer e do ImageJ que tem o uso restrito ao computador. Concluiu-se que os aplicativos testados podem ser utilizados como uma alternativa viável e de baixo custo para medidas de área foliar acelerando o processo de seleção de plantas para o melhoramento vegetal, devendo ser observada a finalidade do uso de cada aplicativo.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Sebastião de Castro Evaristo e Mário Baesso Tristão pela prestimosa colaboração na condução dos experimentos.

O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, e da Fapemig, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais. (a) Parte do projeto “Desenvolvimento de populações sintéticas de capim setária (*Setaria sphacelata* Schumach.) para adaptação as condições ambientais de frio, seca e solos úmidos”, liderado por Antônio Vander Pereira,

Referências

- BARET, F.; COPPIN, P.; FLECK, S.; JONCKHEERE, I.; MUYS, B.; NACKAERTS, K.; WEISS, M. Review of methods for in situ leaf area index determinations . Part I. Theories, sensors and hemispherical photography. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 121, p. 19-35, 2004. doi:10.1016/j.agrformet.2003.08.027
- CARVALHO, J. O.; TOEBE, M.; TARTAGLIA, F. L.; BANDEIRA, C. T.; TAMBARA, A. L. Leaf estimation from linear measurement in different ages of *Crotalaria juncea* plants. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, p. 1851-1868, 2-17. DOI:10.1590/0001-3765201720170077
- FARIAS, C. B. M.; CORREA, A. S. A. S.; SILVA, M. C. M.; CRUZ, R. R.; RAMOS, L. P. N.; SOUZA, S. A. M. (2020). Estimation of the foliar area of jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) by different methods. **Scientific Electronic Archives**, v. 13, p. 13–16, 2020. DOI:10.36560/131020201109
- KAUR, G.; DIN, S.; BRAR, A. S.; SINGH, D. Scanner image analysis to estimate leaf area. **International Journal of Computer Applications**, v. 107, p. 5-10, 2014. DOI:10.5120/18729-9963
- MARTIN, N. M; FILPKE, G. M.; WINK, J. E. M.; MARCHESE, J. A. ImageJ software as an alternative method for estimating leaf area in oats. **Acta Agronomica**, v. 89, p. 162-169, 2020. DOI:10.15446/acag.v69n3.69401
- PATRIGNANI, A.; OCHSNER, T. E. Canopeo: a powerful new tool for measuring fractional green canopy cover. **Agronomy Journal**, v. 107, p. 2312-2320, 2015. DOI:10.2134/agronj15.0150
- SANTANA, H. A.; REZENDE, B. R.; SANTOS, W. V.; SILVA, A. R. Models for prediction of individual leaf area of forage legumes. **Revista Ceres**, v. 65, p. 204-209, 2018. DOI:10.1590/0034-737X201865020013

SHEPHERD, M. J.; LINDSEY, L. E.; LINDSEY, A. J. Soybean canopy measured with Canopeo compared with light interception. **Agricultural & Environmental Letters**, v. 3, 180031, 2018. DOI:10.2134/ael2018.06.0031

WILHELM, W. W.; RUWE, K.; SCHLEMMER, M. R. Comparison of three leaf area index meters in a corn canopy. **Crop Science**, v. 40, p. 1179-1183, 2000.

XIONG, Y.; WST, C. P.; BROWN, C. P.; GREEN, P. E. Digital image analysis of old world bluestem cover to estimate canopy development. **Agronomy Journal**, v. 111, p. 1247-1253, 2019. DOI:10.2134/agronj2018.08.0502

ANEXO 1

Características Principais dos Aplicativos

Aspecto	 Canopeo	 Digimizer	 ImageJ
Dimensões foliares	Porcentagem	cm ²	cm ²
Calibração	Não é necessário	É necessário	É necessário
Dificuldade de uso	Transformar a porcentagem em cm ²	Criar uma planilha auxiliar para realizar o somatório das áreas	Dificuldade está em selecionar cada folha da imagem para mensurar a área.
Limitação	Não se aplica	Uso em laboratório (computador) para analisar imagens futuras	Uso em laboratório (computador) para analisar imagens futuras

ANEXO 2

Instrução de Trabalho - ImageJ

1 - Objetivo

Descrever o método de operação do aplicativo ImageJ para medida de área foliar em forrageiras.

2 - Descrição

O aplicativo ImageJ é executado como um applet on-line ou como um aplicativo para download. O ImageJ pode exibir, editar, analisar, processar, salvar e imprimir imagens de 8 bits, 16 bits e 32 bits e suporta a maioria dos principais formatos, incluindo TIFF, GIF, JPEG, BMP, DICOM, FITS e "raw". A principal aplicação do ImageJ é que ele pode calcular valores de área em pixel que podem ser úteis para designers gráficos e para auxiliar em laboratórios ou campos experimentais em substituição a equipamentos de custo mais elevado.

Para realizar as medidas no computador no modo "offline", primeiramente, deve-se realizar o "download" do programa na versão "free" disponível na internet na página <https://imagej.nih.gov/ij/download.html>.

Após a instalação clicar no ícone (Figura 1) para iniciar as medidas.



Figura 1. Ícone do programa ImageJ

Em seguida, abrirá o menu (Figura 2) com os comandos a serem executados.

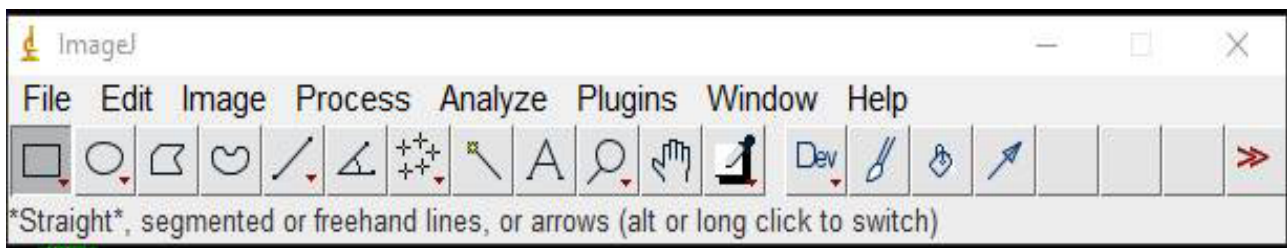


Figura 2. Menu de comandos ImageJ

- No menu clicar em “File”, depois clicar em “Open”;
- Em seguida, abrir a pasta (Figura 3) onde se encontram as fotos a serem analisadas;

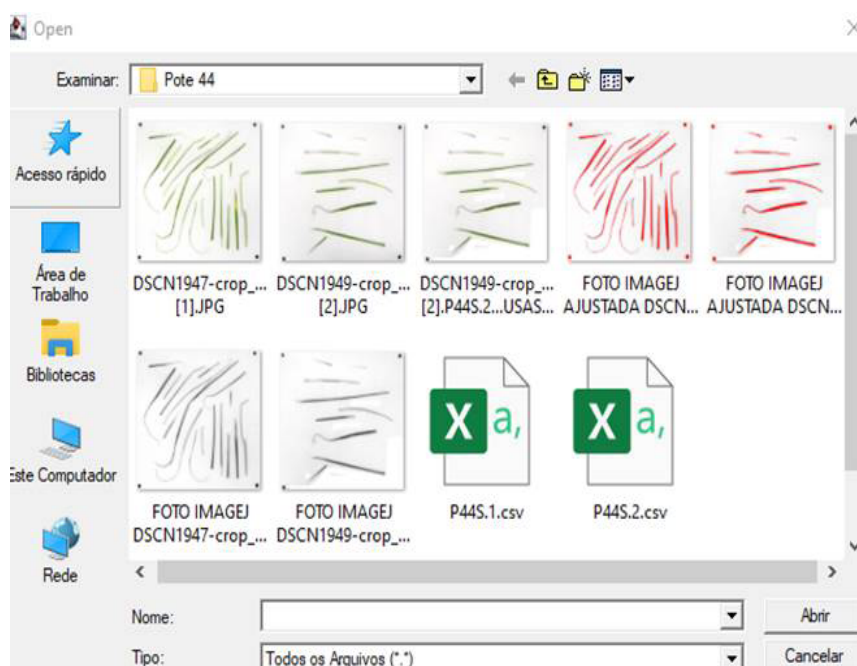


Figura 3. “Open” pasta do arquivo

- Após clicar na imagem original escolhida (Figura 4);



Figura 4. Foto original da forrageira

- No Menu, pressionar no ícone “Image” (Figura 5), depois “Type” e “ e selecionar 8 Bits, a Figura 5 fica no formato abaixo:

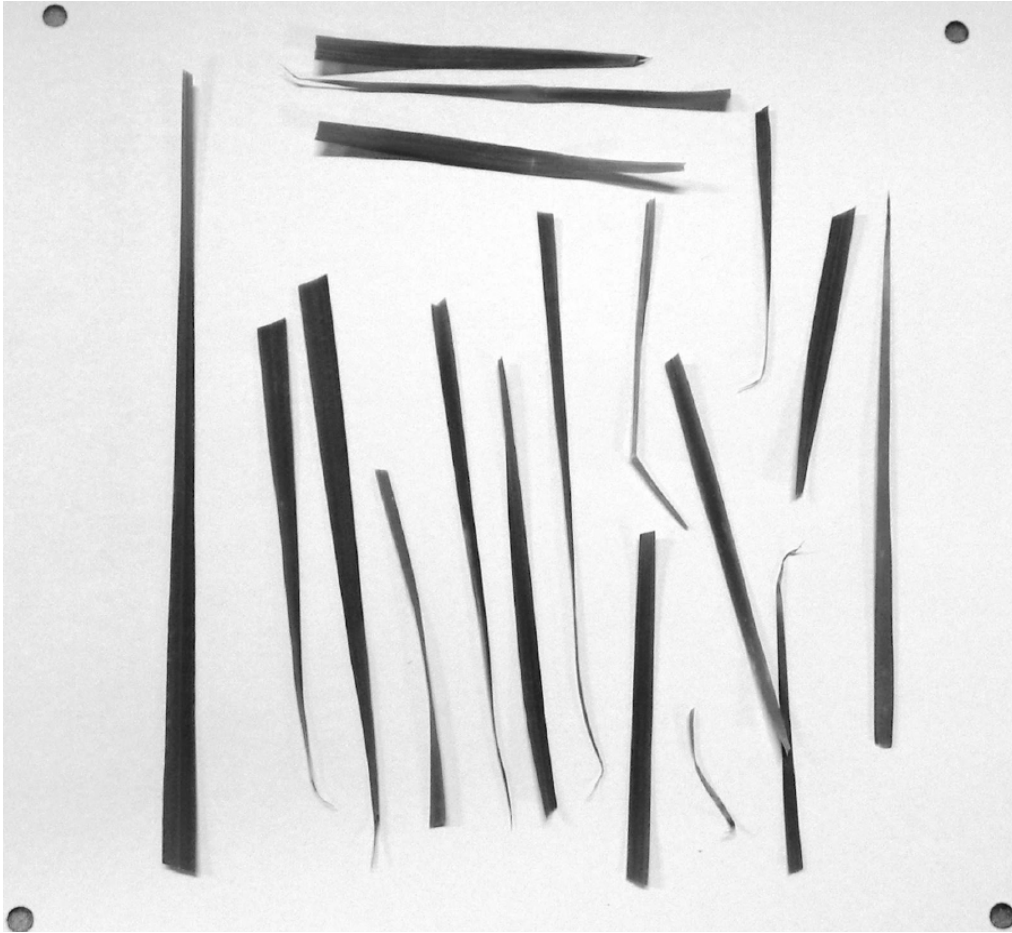


Figura 5. Foto da forrageira em 8 bits

- No Menu, pressionar no ícone “Image” (Figura 6), depois “Ajuste” e “Threshold” para realizar os ajustes de cor necessários. E a foto ficará no formato da Figura 7.



Figura 6. Menu com ícone Image



Figura 7. Foto ajustada em “Threshold”

- No menu na seta (Figura 8) para ajustar a escala da figura, e após clicar em “Analyse” e em “Set Scale” (Figura 9), colocando no campo “known distance” a distância dos pontos na foto realizada anteriormente e em “Unit of length” colocar a unidade em “cm”.



Figura 8. Ícone Seta para marcar os pontos da escala

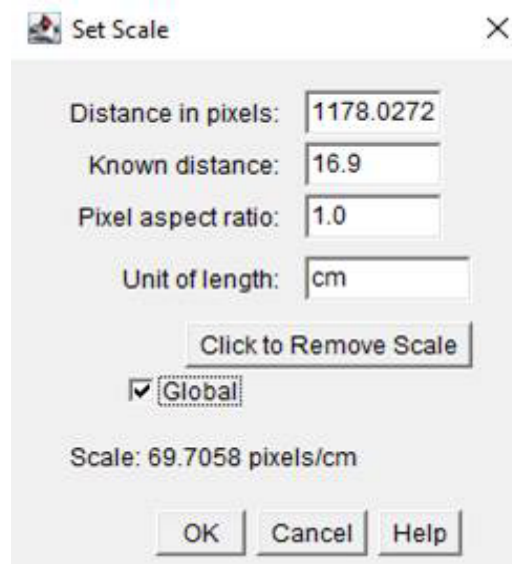


Figura 9. Set Scale

- Para medir as folhas pressionar o ícone “varinha” (Figura 10) para marcar a área a ser medida (Figura 11);



Figura 10. Ícone Varinha



Figura 11. Folha marcada de amarelo será medida

- Em seguida, clicar em “Analyze”, depois “Measure” e os resultados (Figura 12) aparecerão em uma tela separadamente, em cm².

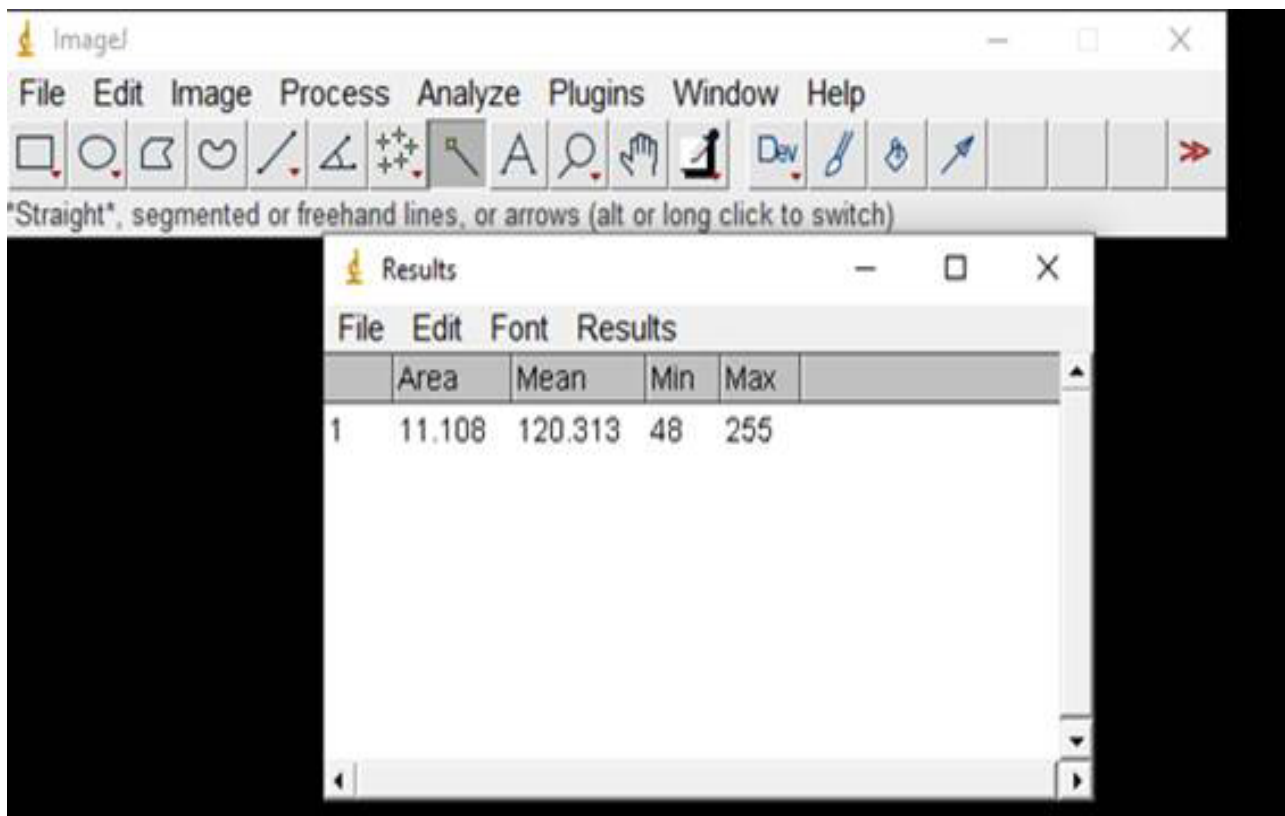


Figura 12. Resultados da medida de área foliar em cm²

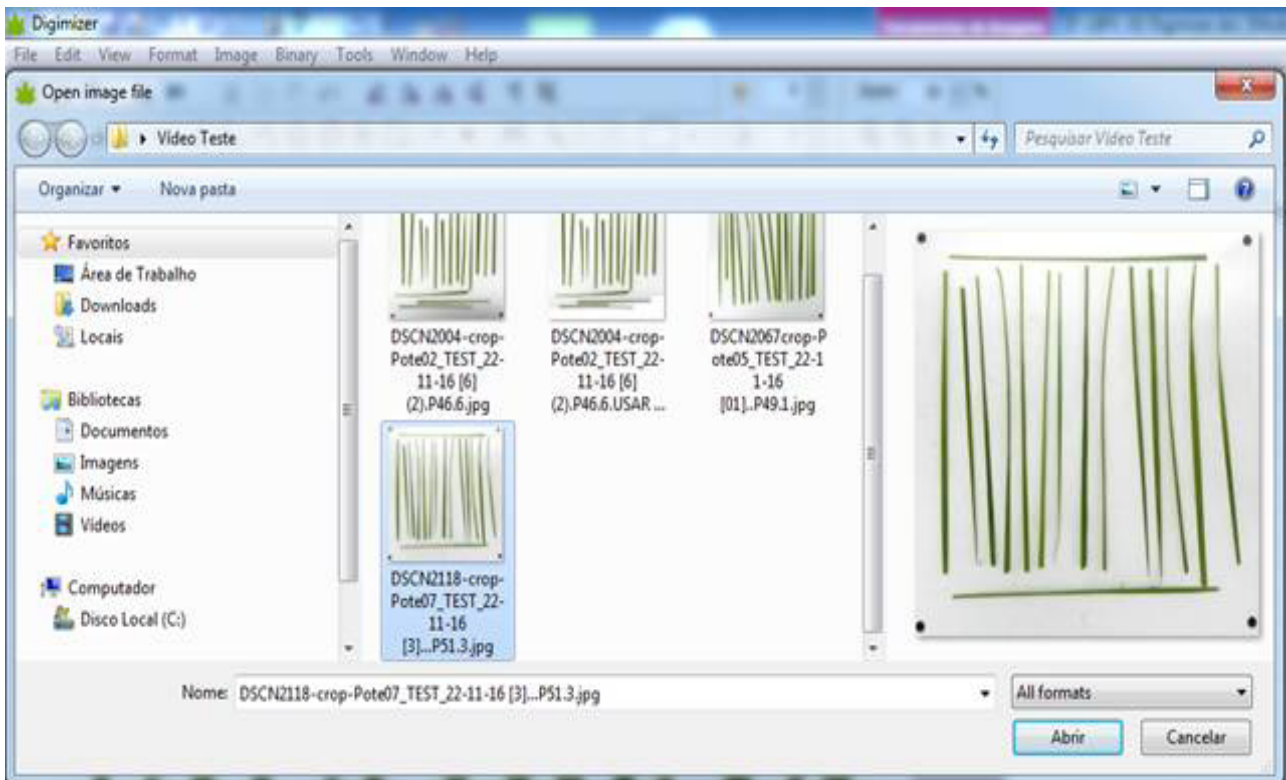


Figura 3. “Open Image...” pasta do arquivo

- Depois clicar na imagem original escolhida (Figura 4);



Figura 4. Foto original da forrageira

- Dessa forma teremos a seguinte tela do programa Digimizer (Figura 5):

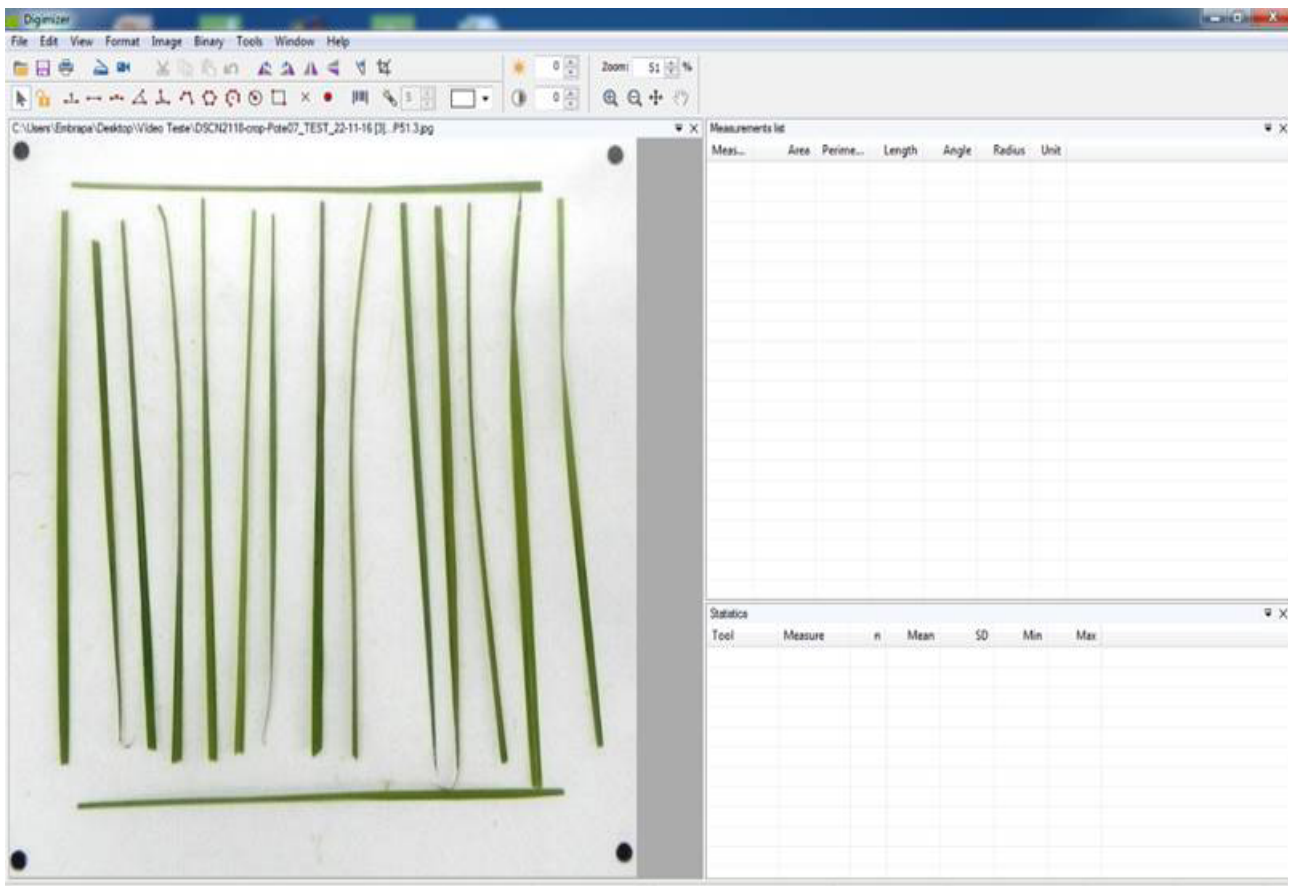
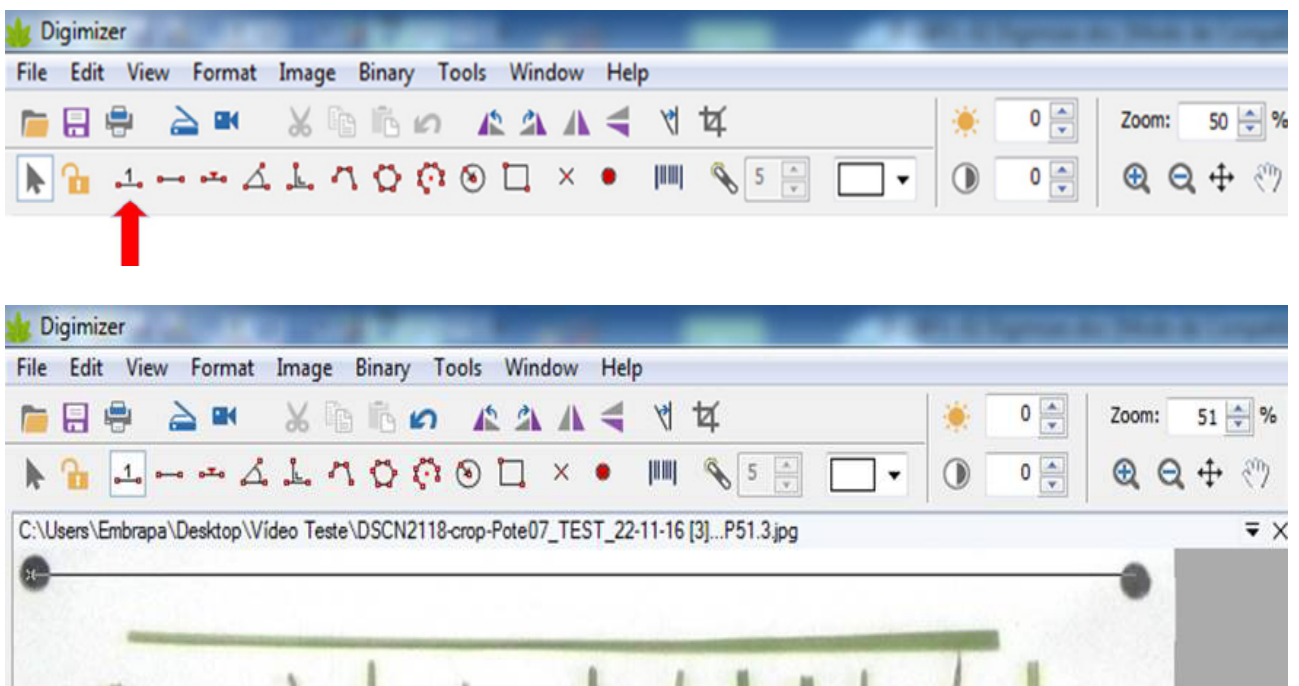


Figura 5. Tela do programa Digimizer

No Menu, pressionar no ícone “Unit” (Figura 6), depois traçar uma reta ligando os dois pontos da imagem (o lado do quadrado) e inserir a real medida na unidade desejada.



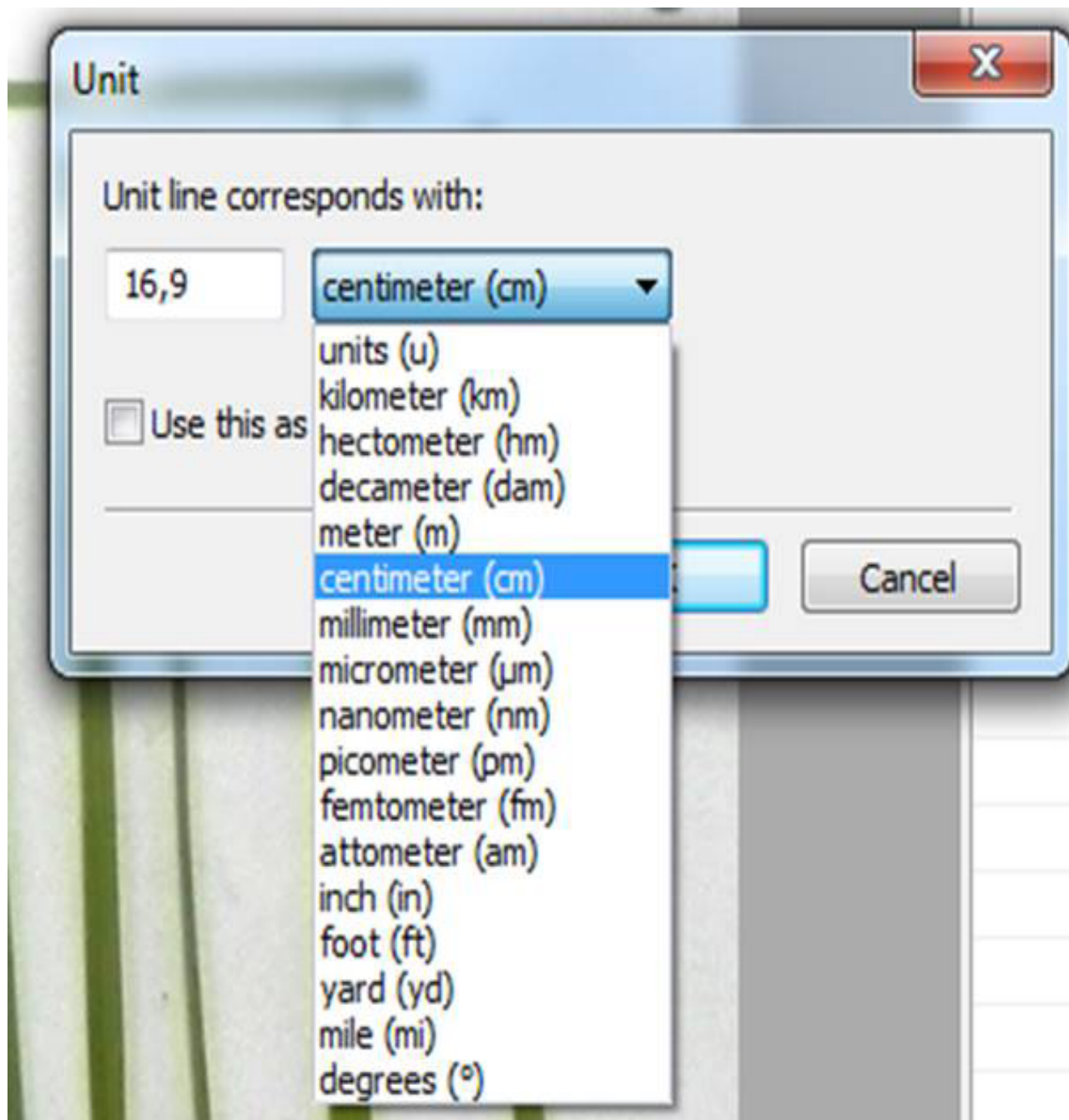


Figura 6. Foto do menu: seleção "Unit"

No Menu, pressionar no ícone "Binary" (Figura 7), depois "Binarization..." para realizar os ajustes de cor necessários. E a foto ficará no formato da Figura 7.

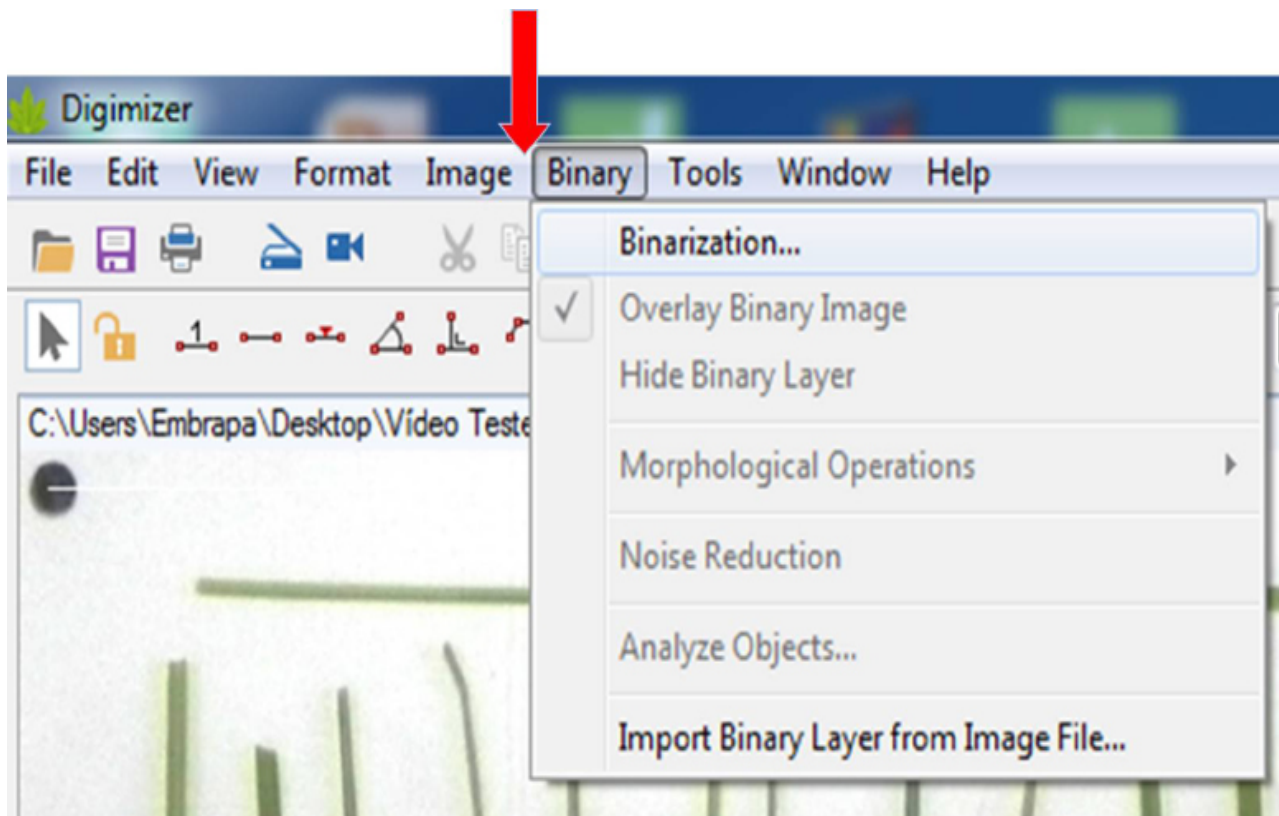


Figura 7. Seleção “Binary”

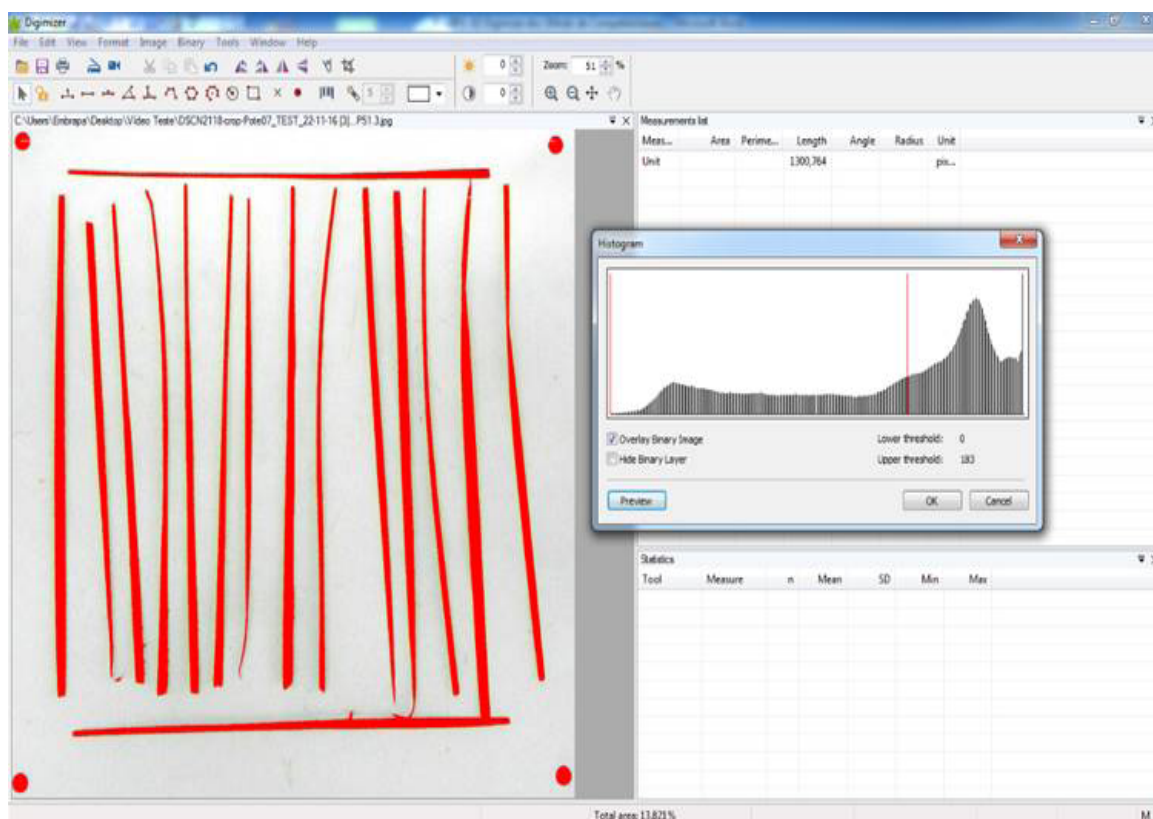


Figura 8. Foto ajustada em “Binarization”

- Selecionar “Ok” da janela Histogram.

No menu, indicado pela seta vermelha (Figura 9) selecionar “Binary” e em seguida “Analyze Objects...” e na janela “Analyze Objects” selecionar “ok.”

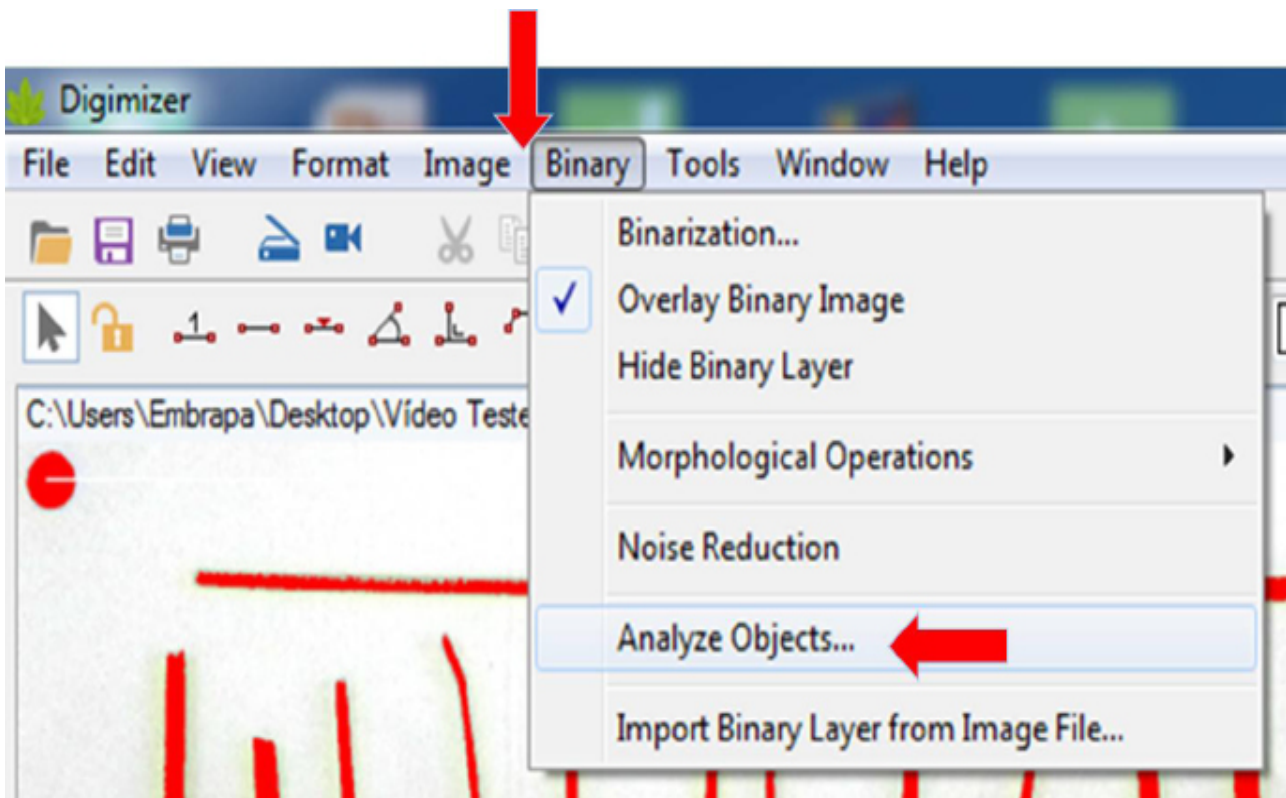


Figura 9. Seleção “Binary” e “Analyze Objects...”

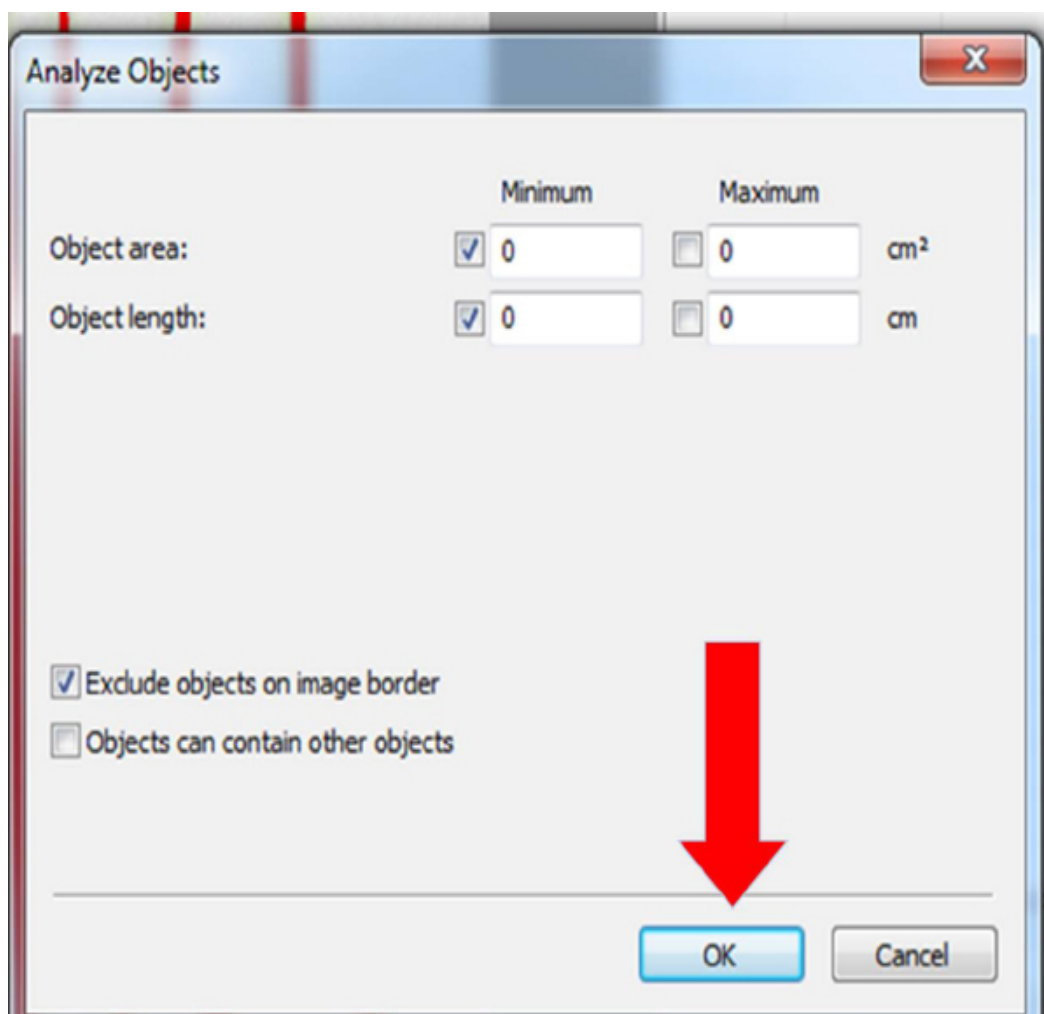


Figura 9. Seleção “Binary” e “Analyze Objects...”

- Dessa forma, a área de cada objeto (folha) aparecerá do lado esquerdo da tela. Assim:

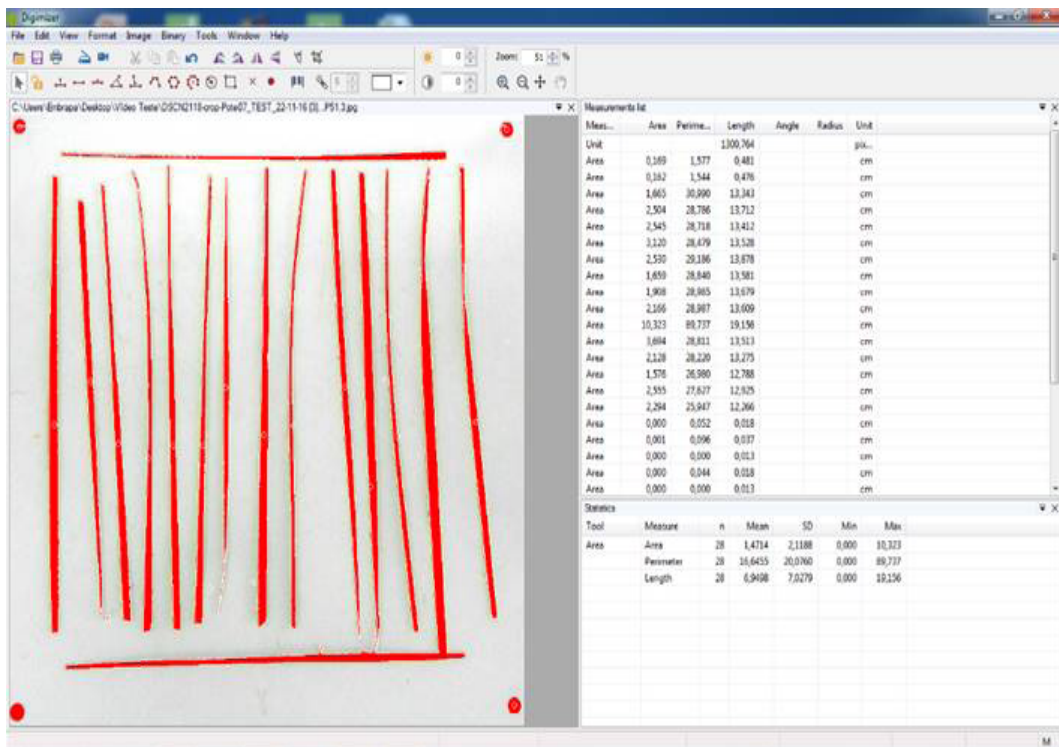


Figura 10. Resultados da medida de área foliar em cm^2

- Cada circunferência pode ser excluída clicando-se em cima da linha ou em cima da circunferência e clicando em “delete”
- Os resultados podem ser salvos e exportados para formato em xlsx.

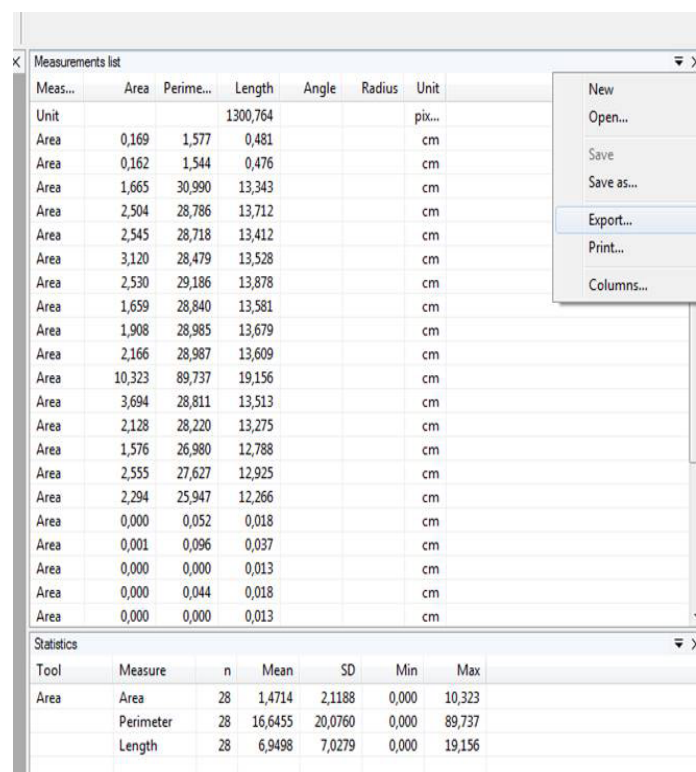


Figura 11. Como exportar arquivo

- Para obter a área total aplica-se a função soma do Excel no arquivo exportado.

ANEXO 4

Instrução de trabalho - Canopeo

1 - Objetivo

Descrever o método de operação do aplicativo Canopeo versão 1.1.7 para medida de área foliar em forrageiras, utilizando uma fotografia.

2 - Descrição

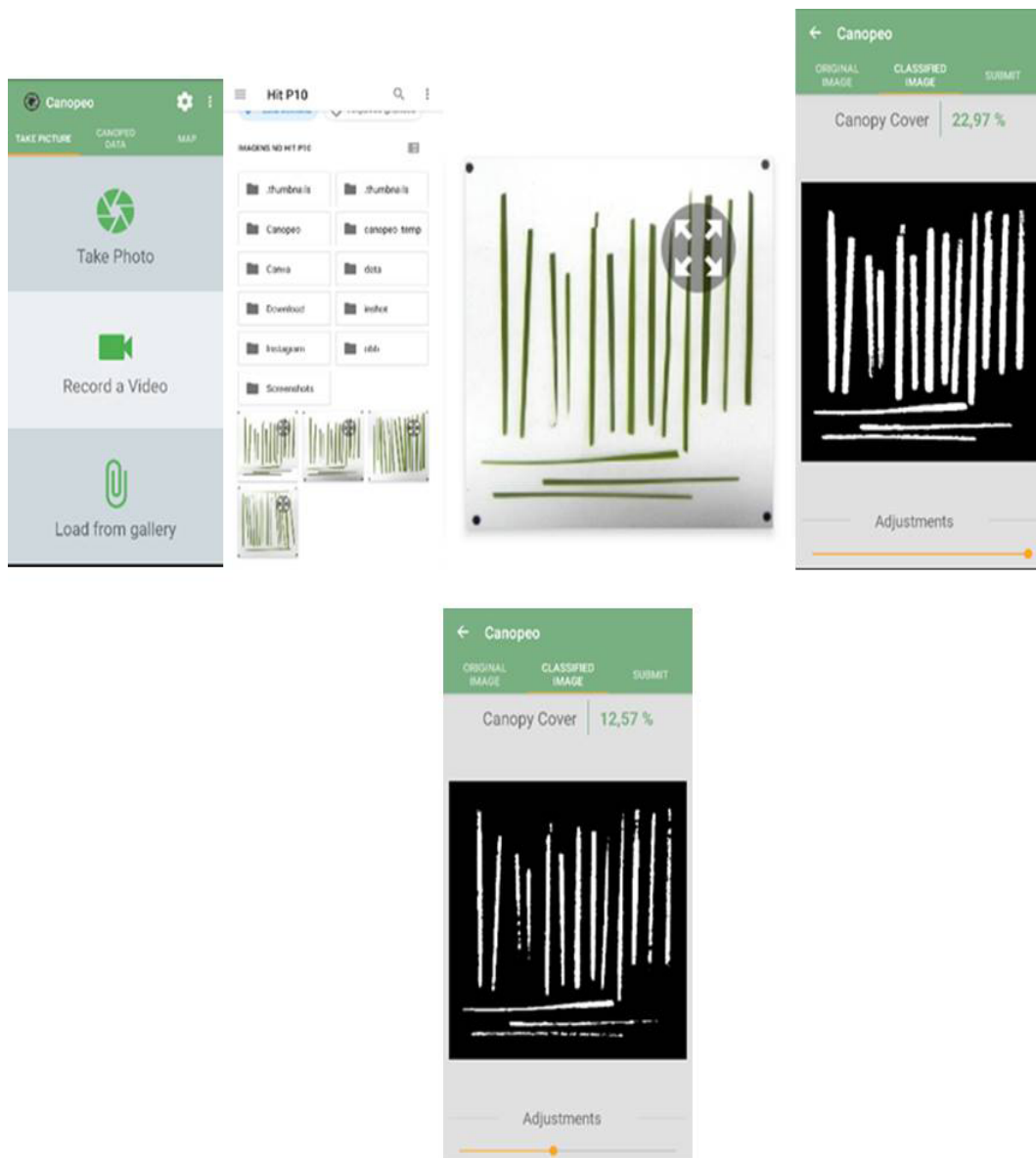
“O Canopeo® é uma ferramenta que possibilita a análise dos pixels utilizando o sistema Red-Green-Blue (RGB) (Patrignani; Ochsner, 2015) e estima a cobertura verde do dossel. O aplicativo foi desenvolvido na Universidade de Oklahoma, e está disponível como aplicativo para dispositivos Android e IOS e permite ao usuário determinar a porcentagem de cobertura verde em tempo real (Patrignani; Ochsner, 2015), o que pode permitir a tomada de decisões de gerenciamento de forma bastante ágil.”

O Download pode ser realizado pelo site: <https://canopeoapp.com/#/login>. É necessário criar uma conta para efetuar login no aplicativo.



Figura 1. Ícone do programa Canopeo

- Após instalação e criação da conta abrir o aplicativo e selecionar a fotografia. Assim:



- No menu clicar em “Load from gallery”.

- Clicar na imagem que deseja mensurar a área.

- Na próxima tela, comparar a imagem de cor com a imagem processada para ver se as configurações padrão são capazes de capturar os pixels verdes corretamente. Na imagem processada, os pixels brancos devem coincidir com os pixels verdes na imagem original. Caso você ache que pequenos ajustes são necessários para coincidir com as imagens, basta mover os ajustes do controle deslizante para corrigir a imagem processada. Normalmente, as configurações padrão fornecem estimativas precisas do dossel. Ajustar em “Adjustments” de acordo com a necessidade.

- Anotar em um caderno a porcentagem para posteriores cálculos.

Bem-estar de vacas criadas em sistemas orgânicos de produção de leite

Higor Borges de Oliveira Franco Spinelli⁽¹⁾, Cristiano Amâncio Vieira Borges⁽²⁾, Fernanda Samarini Machado⁽³⁾, Maria de Fátima Ávila Pires⁽³⁾, Frank Angelo Tomita Bruneli^(3,4)

⁽¹⁾Graduando em Medicina Veterinária, Universidade Salgado de Oliveira, Juiz de Fora, MG. e-mail: h.spinelliborges@gmail.com, ⁽²⁾ Analista Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. e-mail: cristiano.borges@embrapa.br, ⁽³⁾Pesquisador(a), Embrapa Gado de Leite. e-mail: frank.bruneli@embrapa.br, ⁽⁴⁾Orientador

Resumo- A produção orgânica de lácteos tem no bem-estar animal um de seus alicerces e esta pauta tem ganhado destaque na opinião pública, tanto no Brasil quanto nos demais países. Assim, objetivou-se a aplicação do protocolo Welfare Quality® em sistemas orgânicos de produção de leite para avaliar o bem-estar das vacas e verificar as adequações necessárias à realidade dos rebanhos nos trópicos. A avaliação foi realizada em uma propriedade do Rio de Janeiro e outra de Minas Gerais. Os resultados obtidos revelam que fatores como a presença de ectoparasitas afetaram o tegumento dos animais e problemas com o fornecimento de água impactaram o princípio de boa alimentação. As duas propriedades receberam classificações “aceitáveis” em relação ao bem-estar dos animais, porém ainda se fazem necessárias algumas melhorias.

Termos para indexação: critério, escore, índice, manejo, princípio, saúde.

Welfare of cows bred in organic milk production systems

Abstract- Organic dairy production has animal welfare as one of its foundations and this agenda has gained prominence in public opinion, both in Brazil and in other countries. Thus, the objective was to apply the Welfare Quality® protocol in organic milk production systems to assess the cows' welfare and verify the necessary adaptations to the reality of herds in the tropics. The evaluation was carried out on a herd in Rio de Janeiro and another in Minas Gerais. With the results obtained, it was observed that factors such as the presence of ectoparasites affected the tegument of the animals and problems with the water supply impacted the principle of good nutrition. Both farms received “acceptable” ratings for animal welfare, but some improvements are still needed.

Index terms: criteria, health, index, management, principle, score.

Introdução

A produção orgânica de alimentos apresenta grande potencial de expansão, alavancada pelos benefícios associados à saúde dos consumidores, ao bem-estar dos animais, e à redução dos impactos ambientais e sociais inerentes ao processo produtivo (Machado et al., 2021). No que tange as necessidades naturais das vacas leiteiras, em prol de sua saúde e qualidade de vida, a ética do bem-estar animal vem ganhando visibilidade na sociedade, influenciando a busca por produtos orgânicos e o incentivo à criação em ambientes naturais.

Diante da importância da qualidade de vida do animal na produção de leite orgânico, o protocolo, desenvolvido e implantado por um consórcio de países-membros da Comunidade Europeia, no âmbito do projeto Welfare Quality - WQ® (Welfare Quality, 2009), se apresenta como uma ferramenta para avaliar o bem-estar dos animais de produção. Nesse protocolo, estão contemplados princípios, critérios e medidas, conforme apresentados na Figura 1.

Assim, o objetivo do presente trabalho foi aplicar o protocolo WQ® em sistemas orgânicos de produção de leite, a fim de avaliar o bem-estar das vacas, ainda verificando a necessidade de adequação dos ponderadores do protocolo à realidade dos rebanhos nos trópicos.

Tabela 1. Princípios, critérios e medidas de bem-estar animal.

Princípio	Critérios	Medidas
Boa Nutrição	Ausência de sede prolongada	escore de condição corporal
	Ausência de sede prolongada	fornecimento de água, limpeza dos pontos de água, fluxo de água, funcionamento dos pontos de água
Instalações adequadas	Conforto em relação à área de descanso	tempo necessário para deitar-se, animais colidindo com equipamentos durante movimento de deitar-se, animais deitados parcial ou completamente fora da área de descanso, escore sujidade
	Conforto Térmico	não há medida desenvolvida
	Facilidade de movimento	presença de corrente, acesso a área externa ou pasto
Boa Saúde	Ausência de injúrias	claudicação, alteração do tegumento
	Ausência de doenças	corrimento nasal, corrimento ocular e corrimento vulvar, diarreia, tosse, respiração dificultada, contagem de células somáticas, mortalidade, distocia, síndrome da vaca caída
	Ausência de dor induzida por procedimentos de manejo	mochamento/descorna, corte de cauda
Comportamento Natural	Expressão de comportamentos sociais	comportamentos agonísticos
	Expressão de outros comportamentos	acesso ao pasto
	Boa relação Homem-Animal	distância de esquiva
	Estado emocional positivo	Validação do comportamento qualitativo

Fonte: Adaptado de (Welfare Quality, 2009)

Material e métodos

Para avaliar o bem-estar de vacas em sistemas orgânicos de produção de leite, foi aplicado o protocolo WQ® no corrente ano, em uma propriedade localizada no estado de Minas Gerais (Propriedade 1) e outra no estado do Rio de Janeiro (Propriedade 2), ambas certificadas pelo Instituto Biodinâmico de Desenvolvimento Rural (IBD). Por um infortúnio, outras quatro propriedades de produção orgânica de leite não puderam ser avaliadas, ainda como reflexo das medidas restritivas de enfrentamento à pandemia COVID-19 e do contingenciamento de recurso público federal previsto para este estudo.

O rebanho da propriedade 1 era constituído de 19 vacas em lactação. Por se tratar de um rebanho pequeno, todas as lactantes foram avaliadas. Por sua vez, a propriedade 2 dispunha de 44 vacas em lactação, agrupadas em três lotes. Neste rebanho, foram avaliadas as 12 vacas de maior produção (lote 1) e mais as 18 vacas do lote 2, atendendo ao tamanho amostral preconizado no protocolo WQ®. Os dados das propriedades 1 e 2

foram tabulados e analisados conforme três métodos estabelecidos no protocolo WQ® e apresentados numa escala de valor (0 pior, 100 melhor situação), a saber:

1- Foi calculada a soma ponderada para se obter um Índice que irá direcionar os valores dos coeficientes a serem utilizados na função I-spline. Este é o método de escolha quando se utiliza somente uma medida a nível individual, ex.: % de vacas magras; e/ou com diferentes graus e diferentes pesos de acordo com a severidade, ex.: % de vacas sem claudicação, % de vacas com claudicação moderada, % de vacas com claudicação severa.

2- Utilizando a árvore de decisão; usado quando as medidas são em nível de propriedade e expressas em um número limitado de categorias.

3- Calculou-se o número de alertas e alarmes para determinada medida quando estas foram expressas em escalas diferentes (porcentagem, frequência, intensidade). Os resultados foram classificados nestas duas categorias após verificar o valor do limiar que representa o limite entre o que é considerado normal e anormal.

Resultados e discussão

Feito o cálculo do escore final para cada um dos quatro princípios, o protocolo WQ® estabelece a classificação da propriedade em uma das quatro categorias existentes: “excelente”, “boa”, “aceitável” e “não classificada”. Para atingir a classificação “Excelente”, a propriedade avaliada precisava, necessariamente, obter escore final acima de 80 para, pelo menos, dois dos quatro princípios, além de alcançar o escore mínimo de 55 nos demais princípios. Para ser considerada “Boa”, mas necessitando de aprimoramento em algumas práticas de bem-estar, a propriedade teria que obter escore final acima de 55 para, pelo menos, dois dos quatro princípios além de alcançar o escore mínimo de 20 nos demais. A propriedade permaneceria sem classificação caso não alcançasse o escore final de 20 para três dos quatro princípios e nem alcançasse o escore de 10 no princípio restante.

Ambas as propriedades avaliadas neste trabalho foram classificadas como “Aceitável” em termos de bem-estar animal (Figura 2), ou seja, obtiveram escore final acima de 20 em três dos quatro princípios, pelo menos, além do escore acima de 10 no princípio restante. No entanto, foram identificadas várias áreas necessitando de aprimoramento.

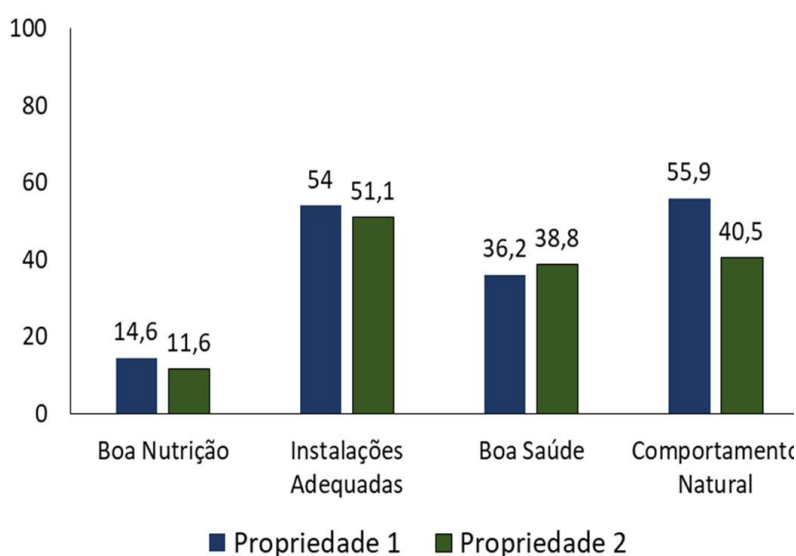


Figura 2. Escore final dos princípios “Boa nutrição”, “Instalações adequadas”, “Boa saúde” e “Manifestação do comportamento apropriado” avaliados nas propriedades 1 e 2 segundo o protocolo WQ® (adaptado de Welfare Quality, 2009).

No princípio da "Boa Nutrição", apesar das propriedades terem alcançado boa pontuação no critério "Ausência de Fome", os resultados indicaram desafios em relação ao critério "Ausência de Sede", devido às condições inadequadas dos bebedouros, afetando negativamente a pontuação desse princípio (propriedade 1 = 14,6; propriedade 2 = 11,6).

No princípio das "Instalações Adequadas", um aspecto que refletiu negativamente na avaliação das vacas criadas a pasto foi a presença de barro nas trilhas que gerou maior sujidade nos animais. Por outro lado, o critério de "Facilidade de movimentação" foi impactado positivamente devido o acesso ao pasto, gerando um escore final de 54,0 na propriedade 1 e de 51,1 na propriedade 2.

O princípio de "Boa Saúde", talvez o mais complexo a ser avaliado, visto envolver aferições diretamente no animal, análises de leite e informações advindas do proprietário ou gerente, foi influenciado por problemas de saúde como diarreia, corrimento nasal e taxa de mortalidade. A infestação por ectoparasitas causando alterações na pele dos animais também foi identificada, justificando avanços no tratamento das parasitoses em sistemas orgânicos de produção. As mesmas injúrias foram observadas por Marlière et al. (2022) em sistemas convencionais de produção de leite indicando uma associação com as condições tropicais de manejo e ocorrência de enfermidades.

No que diz respeito ao "Comportamento Adequado", a propriedade 1 obteve pontuação maior no critério "Comportamento Social" em relação ao critério "relação homem-animal". E o contrário foi verificado na propriedade 2.

A análise apontou ainda a necessidade de redefinir os limites de normalidade e de problemas (moderados e severos) dos indicadores, adequados aos sistemas a pasto, assim como identificado por Franchi et al. (2014), considerando a introdução de novos indicadores como escore para infestação de ectoparasitas, de papilomatose, para presença de moscas, escore para sombreamento nas pastagens (natural e artificial) além da retirada de medidas que não se enquadram nesse tipo de sistema de produção. Também foi identificada a necessidade de redefinir os valores limiares entre condição de alerta e alarme, além de reestruturar as características exigidas de bebedouros localizados nas pastagens, bem como alterar a metodologia para avaliação do tempo para deitar.

Conclusões

Com base nos dados e informações obtidas, concluiu-se que a adaptação do protocolo WQ® mostra-se essencial para garantir a avaliação precisa de sistemas de produção animal, com destaque para os sistemas orgânicos de produção de leite, e promover a melhoria do bem-estar dos animais, há de se ressaltar que o protocolo ainda requer ajustes para sua aplicação nas condições tropicais dos sistemas de produção de leite, envolvendo a criação das vacas a pasto.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil, como parte do projeto intitulado

“Observatório do Leite Orgânico: contribuições para o desenvolvimento da cadeia, da inteligência territorial e de subsídios à elaboração de políticas públicas”, liderado pela dra. Fernanda Samarini Machado e financiado pela Embrapa. Bolsista do Pibic Embrapa/CNPq.

Aos produtores de leite orgânico que colaboraram na coleta dos dados, ao CNPq pela bolsa concedida e à Embrapa pelo aporte financeiro ao projeto.

Referências

FRANCHI, G. A.; GARCIA, P. R.; SILVA, I. J. O. Welfare quality applied to the Brazilian dairy cattle. **Journal of Animal Behaviour Biometeorology**, v. 2, n. 2, p. 60-65, 2014.

MACHADO, F. S.; CASTRO, C. R. T.; DINIZ, F. H.; MAGALHÃES JÚNIOR, W. C. P.; PIRES, M. F. A. **Leite orgânico**: cenário da pecuária leiteira orgânica no Brasil. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2021. 38 p. (Embrapa Gado de Leite, Documentos, 260).

MARLIÉRE, J. de B. L.; PIRES, M. de F. A.; PEIXOTO, M. G. C. D.; LOPES, A. C.; BRUNELI, F. A. T. Avaliação dos indicadores de saúde em sistemas de produção de leite a pasto conforme o protocolo Welfare Quality® de bem-estar animal. In: WORKSHOP DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA GADO DE LEITE Pibic/CNPQ, 26., 2022, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2022. p. 61-65.

WELFARE QUALITY®. **Welfare Quality® assessment protocols for cattle**. Lelystad, 2009. Disponível em: http://www.welfarequalitynetwork.net/media/1088/cattle_protocol_without_veal_calves.pdf. Acesso em: 13 set. 2023.

Biodigestão anaeróbica de dejetos bovinos: eficiência energética, população microbiana e remoção de hormônios

Camila Souza Coelli⁽¹⁾, Felipe Ferreira Coelho⁽²⁾, Larice Rezende Santana⁽³⁾, Juarez Campolina Machado⁽⁴⁾, Marcelo Henrique Otenio^(4,5)

⁽¹⁾Graduanda em Medicina Veterinária – UFJF, Juiz de Fora, MG. e-mail: camilasouza.coelli@estudante.ufjf.br, ⁽²⁾Graduando em Engenharia Ambiental e Sanitária - UFJF, Juiz de Fora, MG. e-mail: 6felipefc@gmail.com, ⁽³⁾Doutoranda em Ciências Farmacêuticas – UFJF, Juiz de Fora, MG. E-mail: laricereznde.santana@estudante.ufjf.br, ⁽⁴⁾Pesquisador Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. E-mail marcelo.otenio@embrapa.br, ⁽⁵⁾Orientador

Resumo- A geração de biogás em reatores anaeróbios parte do conhecimento do comportamento do inóculo, ou seja, da população microbiana, para o controle do processo e sua otimização. Nesse estudo, o inóculo foi aplicado no teste de Potencial Metanogênico Específico (PME) relevante para determinar a taxa de produção de biogás de resíduos da agropecuária. Foi utilizada a Norma Padrão Alemã VDI 4630 (2006) para preparação dos inóculos constituídos por dejetos bovinos e água de lavagem dos pisos do free stall do Campo Experimental José Henrique Bruschi, da Embrapa Gado de Leite. Neles foram adicionados quatro tipos de ingredientes, constituindo-se a base nutricional para a microflora do inóculo, composta por óleo, silagem de milho, leite em pó e capim. Então, avaliou-se PME de três amostras: (I) Gelatina (II) Bagaço de malte e (III) Celulose que substituíram alguns ingredientes, sendo (I) substituindo o leite em pó, (II) substituindo a silagem de milho, (III) substituindo o capim, um de cada vez. Os resultados obtidos foram comparados ao Relatório do Projeto Interlaboratorial de 2023. Os valores médios de produção de biogás a partir das amostras Gelatina, Malte e Celulose foram semelhantes aos expressos no relatório do projeto interlaboratorial, com melhores resultados para produção de biogás da celulose. Quanto aos resultados dos Sólidos Totais (ST) e Sólidos Voláteis (SV), os valores médios para as amostras Gelatina, Malte e Celulose, estão em conformidade com os resultados do relatório.

Termos para indexação: biodigestão, dejetos, sustentabilidade, biogás.

Aerobic digestion of cattle manure: energy efficiency, microbial population and hormone removal

Abstract- The biogas generation in anaerobic reactors starts from the knowledge of the behavior of the inoculum, that is, of the microbial population for the control of the process and its optimization. In this study, the inoculum applied in the relevant Specific Methanogenic Potential (SPM) test to determine the rate of biogas production from agricultural waste. The German Standard Norm VDI 4630 (2006) was used to prepare the inoculum consisting of bovine manure and water from washing the floors of the free stall of the Embrapa experimental

farm. Four types of ingredients added to them, constituting the nutritional basis for the microflora of the inoculum; composed of oil, corn silage, powdered milk and grass. Then, SPM of three samples were evaluated: (I) Gelatin (II) Malt Bagasse and (III) Cellulose that replaced some ingredients, being (I) replacing powdered milk, (II) replacing corn silage, (III) replacing the grass, one at a time. The results obtained were compared to the 2023 Interlaboratory Project Report. The average values of biogas production from the Gelatin, Malt and Cellulose samples were similar to those expressed in the Interlaboratorial Project report, with better results for biogas production from cellulose. As for the results of Total Solids (TS) and Volatile Solids (SV), the average values for the Gelatin, Malt and Cellulose samples are in accordance with the results of the report.

Index terms: biodigestion, manure, sustainability, biogas.

Introdução

A biodigestão anaeróbia é um processo de estabilização biológica da matéria orgânica, realizada por diferentes tipos de microrganismos, na ausência de oxigênio molecular que promove a transformação de compostos orgânicos complexos em produtos mais simples como metano e gás carbônico (Cassini, 2003). Esse processo ocorre a partir da população microbiana presente no afluente do biorreator. Nesse âmbito, segundo Vazoller (1981), para se atingir o objetivo dos reatores anaeróbios da geração de biogás por meio de um sistema equilibrado e com melhor desempenho possível, é necessário conhecer o comportamento do inóculo microbiano não só para o controle do processo como também para sua otimização. Assim, devem ser considerados parâmetros ambientais do sistema, como a temperatura e o pH, e a configuração do reator, o substrato a ser tratado e o inóculo a ser utilizado (Cassini, 2003). Nesse estudo, a produção de inóculo foi realizada para ser aplicada em teste de Potencial Metanogênico Específico (PME).

Os estudos de PME são relevantes para determinar o valor em produção de biogás de diversas matrizes originárias dos resíduos da agropecuária. Para isto justifica-se a utilização de metodologias padrão para estudos que sejam reprodutíveis e com perspectivas de aplicação no processo de biodigestão anaeróbia em escala real.

Assim, objetivou-se produzir e utilizar inóculos competentes para condução de experimentos, além de estimar o PME, Sólidos Totais (ST), Sólidos Voláteis (SV) e o desempenho de biodigestão anaeróbia a partir das amostras recebidas do programa interlaboratorial de biogás da Embrapa. Os resultados que a seguir são expostos vão ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, contribuindo para o alcance dos seguintes objetivos específicos: ODS 6 - Água limpa e saneamento: Garantir disponibilidade e manejo sustentável da água e saneamento para todos; ODS 7 - Energias renováveis: Garantir acesso à energia barata, confiável, sustentável e renovável para todos; ODS 8 - Empregos dignos e crescimento econômico: promover o crescimento econômico sustentado, inclusivo e sustentável, emprego pleno e produtivo, e trabalho decente para todos.

Material e métodos

Este estudo buscou avaliar o PME de quatro amostras recebidas pela Embrapa Gado de Leite: (I) Gelatina, (II) Bagaço de malte, (III) Celulose, (IV) Capim-elefante. Para tanto

foi produzido e aclimatado inóculo a partir da mistura de esterco fresco e água de lavagem dos pisos do free stall do Campo Experimental José Henrique Bruschi da Embrapa Gado de Leite. Foi realizada a mistura do inóculo em proporções determinadas, uma amostra de cada vez; o PME foi determinado por metodologia padrão, em escala laboratorial, utilizando eudiômetro (Santos, 2013).

Na análise laboratorial para parâmetros físico-químicos da mistura foram determinados: pH, acidez e alcalinidade, sólidos totais e voláteis do inóculo e das amostras recebidas (Kunz et al., 2019).

Foi utilizada a Norma Padrão Alemã VDI 4630 (Association of German Engineers, 2006) para preparação dos inóculos a partir de dejetos bovinos e da água de lavagem dos pisos do free stall. Foram adicionados quatro tipos de ingredientes/componentes diferentes, constituindo-se, assim, uma base nutricional para a microbiota presente no dejetos (Association of German Engineers, 2006).

A base nutricional se baseia em óleo (fonte de lipídios), silagem de milho (amido/fonte de carboidrato), leite em pó (fonte de proteína) e capim ou composto de forrageira (fonte de celulose/carboidrato complexo). Assim, as substituições feitas foram: (I) Gelatina (II) Bagaço de malte e (III) Celulose que substituíram alguns ingredientes, sendo (I) substituindo o leite em pó, (II) substituindo a silagem de milho, (III) substituindo o capim, um de cada vez e (IV) no lugar do composto forrageiro (Association of German Engineers, 2006).

Cada amostra foi testada de maneira individual, tendo um inóculo com abastecimento alterado e outro com abastecimento padrão como controle ou, branco. Isto é, a cada novo ciclo de abastecimento, a amostra era substituída e aclimatada ao novo abastecimento e retornando com o ingrediente que havia sido substituído, sendo que cada ciclo teve duração de 14 dias, contando sete dias seguidos com abastecimento dos inóculos e sete dias seguidos sem abastecê-los e, então, no 15º dia era adicionada “dose única” no inóculo de alimentação aclimatada com uma das amostras e o branco não recebia nenhum tratamento diferente além de ser, também, transferido para o eudiômetro.

Então, a produção de biogás foi mensurada diariamente a partir do deslocamento da coluna de água colorida, dentro do tubo do eudiômetro. Ao se estabilizar a produção de biogás, foi verificado seu valor acumulado, ou seja, foram somados os valores obtidos de cada deslocamento medido, durante aquele teste de capacidade metanogênica, junto à soma de dias que compunha o intervalo de tempo que foi feito.

Para determinar a quantidade de substrato para “dose única” e de inóculo deve-se seguir a proporção 1:2 de SV para SV do inóculo, seguindo a metodologia descrita na Norma alemã VDI 4630 (Association of German Engineers, 2006).

$$\frac{gSV_{substrato}}{gSV_{inóculo}} \leq 0,5$$

Para isso, os passos seguidos para a montagem do eudiômetro foram:

- 1) Determinar os teores de SV (%) do inóculo e dos substratos utilizados;
- 2) Determinar a massa de SV (gSV) na amostra de 200 mL de inóculo:
 Massa de SV = Massa da amostra x Teor de SV da amostra
- 3) Calcular a massa de SV do substrato necessária para obter a proporção desejada (1:2)
 Modo de calcular a massa mencionada no item 3:
 Massa de substrato = massa de SV_{substrato}/teor de SV_{substrato}

Em comparação entre os Sólidos Totais (ST) encontrados no laboratório, a partir das amostras Gelatina, Malte e Celulose expressos na Tabela 1, respectivamente, foram 0,894844 g(st)/g(a), 0,92569 g(st)/g(a), 0,949118 g(st)/g(a) e no Relatório do Projeto Interlaboratorial os ST expressos na devida ordem, 0,8935 g(st)/g(a), 0,9247 g(st)/g(a) e 0,9575 g(st)/g(a), pode-se considerar que esses parâmetros estão em conformidade.

Além disso, em relação aos Sólidos Voláteis (SV), como expressos na Tabela 1, foram obtidos os seguintes resultados: 0,891354 g(st)/g(a) para amostra Gelatina, 0,89081 g(st)/g(a) para Malte e 0,948819 g(st)/g(a) para Celulose, sendo que no relatório foram apresentados para as mesmas amostras, respectivamente, 0,9045 g(st)/g(a), 0,8721 g(st)/g(a), 0,9701 g(st)/g(a). Dessa forma, os resultados obtidos foram próximos aos parâmetros expressos pelo relatório do Projeto Interlaboratorial (Bassani, 2023).

Conclusões

Os resultados deste trabalho mostraram-se adequados ao que foi proposto como estudo de teste padrão para determinação do PME de amostras de biomassa em comparação ao relatório do Projeto Interlaboratorial, utilizado como referência. Após encontrar essa correlação, aumenta-se a possibilidade de aproveitamento de biomassa para a produção de biogás. Entretanto, precisa-se ainda continuar essa linha de pesquisa para encontrar a melhor alternativa de substrato possível a ser utilizado como fonte de energia na biodigestão anaeróbia. Concomitantemente a isso, poderá haver formação de recursos humanos pela oferta de estágio para níveis de graduação e de pós-graduação na área de estudos de Biodigestão Anaeróbica.

Agradecimentos

Ao CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil. O presente trabalho foi realizado com o apoio da Fapemig. Parte do projeto “Biodigestão anaeróbica de dejetos bovinos: eficiência energética, população microbiana e remoção de hormônios.” APQ-02872-18, liderado por Marcelo Henrique Otenio,

A Embrapa Gado de Leite pela oportunidade de treinamento. Ao analista Junior Fernandes Lima e estagiários, pelo apoio na condução do trabalho no Laboratório de Microbiologia do Rúmen.

Referências

- ASSOCIATION OF GERMAN ENGINEERS. **VDI 4630 - Fermentation of organic materials**: characterization of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests. Bremen, 2016. 132 p. ICS 13.030.30, 27.190.
- BASSANI, J. C. **Programa de ensaios de proficiência biogás - BiogásFort**. Chapecó: Senai, 2023. 73 p.
- CASSINI, S. T. **Digestão de resíduos sólidos orgânicos e aproveitamento do biogás**. Rio de Janeiro: Abes: RiMa, 2003. 210 p.
- KUNZ, A.; AMARAL, A. C. do; STEINMETZ, R. L. R. **Padronização de uso das unidades de medida em processos de produção de biogás**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2016. 4 p. (Embrapa Suínos e Aves. Comunicado Técnico, 537).
- KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; AMARAL, A. C. do (ed.). **Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato**. Concórdia: Sbera: Embrapa Suínos e Aves, 2019. 209 p.

SANTOS, J. B. dos. **Metodologia para determinação da produção de biogás**. 2013. 39 f. Monografia (Graduação em Tecnologia em Gestão Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira.

VAZOLLER, R. **Microbiologia da digestão anaeróbia**. São Paulo: Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 1981. Manual CETESB 5308/N857m.

Desenvolvimento de aplicação para gestão da qualidade de registros de animais da raça Holandesa

Lucas Ávila M. de Paula⁽¹⁾, Kennedy Vieira⁽²⁾, Victor Muinos Barroso Lima⁽³⁾, Cláudio Napolis Costa^(4,5)

⁽¹⁾Graduando em Estatística - UFJF/Juiz de Fora. E-mail: lucasavila20@gmail.com, ⁽²⁾Graduando em Ciência da Computação - UFJF/Juiz de Fora. E-mail: kennedycvieira@gmail.com, ⁽³⁾Analista, Ciência da Computação, Embrapa Gado de Leite - Juiz de Fora. e-mail:victor.lima@embrapa.br, ⁽⁴⁾Pesquisador, Melhoramento Genético Animal, Embrapa Gado de Leite - Juiz de Fora. e-mail: claudio.napolis@embrapa.br, ⁽⁵⁾Orientador

Resumo- A integridade dos registros de genealogia é fundamental para a estruturação do pedigree, componente crítico da modelagem estatística em um sistema de avaliação genética de animais em programas de seleção. Este estudo objetivou desenvolver um procedimento informatizado para a gestão de registros de genealogia de animais da raça Holandesa no Brasil. Foram inicialmente avaliados e caracterizados o material disponível, os recursos de software e o ambiente operacional para o seu desenvolvimento. Orientando-se no referencial conceitual sobre gestão de banco de dados, desenvolveu-se o estudo em ambiente Windows, com os programas Sistema Gerenciador de Banco de Dados PostgreSQL 9.6, Servidor Web Apache 2.4 e linguagem de programação Web PHP 5.6. Os registros recebidos (em planilhas formato CSV) foram submetidos, previamente, a um processo de conformidade (programas/scripts em PHP), que objetiva garantir a integridade e coerência dos registros a serem armazenadas com os já existentes (em ambiente PostGreSQL), conforme o respectivo modelo de dados. O teste e validação do procedimento desenvolvido foram realizados e conduzidos em articulação/colaboração com o NIT da Embrapa Gado de Leite, cujo servidor caracteriza o seu futuro ambiente operacional. O procedimento desenvolvido representa um avanço na validação da integridade dos registros de genealogia e posterior estruturação do pedigree dos animais, pois impacta a precisão das estimativas de seus respectivos valores genéticos. Neste sentido, proporciona maior rapidez, segurança e integridade no seu processamento e disponibilização para as aplicações pertinentes ao sistema de avaliação genética.

Termos para indexação: banco de dados, bovino leiteiro, genealogia, registro zootécnico, pedigree, SGBD.

An application for quality control of genealogy records of Holstein cattle

Abstract- The integrity of genealogy records is critical to structuring the pedigree, a critical component of the statistical modeling in genetic evaluation of animals in a selection program. This study aimed to develop a computerized procedure for the management of genealogy records of Holstein animals in Brazil. The available material, software resources and operating environment for its development were initially evaluated and characterized. Based on the conceptual framework of database management, the study was developed in

a Windows environment, with the programs PostgreSQL Database Manager System 9.6, Apache Web Server 2.4 and PHP 5.6 Web programming language. The genealogy records of animals (in CSV format spreadsheets) were previously submitted to a compliance process (PHP programs/scripts), which aims to ensure the integrity and coherence of the records to be stored with the existing ones (in PostGreSQL environment), according to the respective data model. The test and validation of the developed procedures were carried out and conducted in collaboration with the NIT of Embrapa Dairy Cattle, whose server characterizes its future operating environment. The procedure developed represents an advance in the validation of the integrity of the genealogy records, and subsequent structuring of the pedigree of the animals, which plays an impact on the accuracy of the estimates of their genetic values. In this sense, it provides greater speed, safety and integrity in its processing and availability for the relevant applications of the Holstein cattle genetic evaluation system.

Index terms: data base, dairy cattle, genealogy, identification records, pedigree, DBMS.

Introdução

A Associação Brasileira de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (2023) realiza o registro genealógico da raça, oferecendo os serviços de avaliação do tipo racial, controle leiteiro, orientação técnica e promoção da raça.

A Embrapa Gado de Leite tem apoiado os programas de seleção das raças leiteiras criadas no Brasil, orientando tecnicamente a realização das avaliações genéticas de touros e vacas, com disponibilização de indicadores de mérito genético para as principais características de interesse econômico destas populações raciais. Estas atividades são baseadas na aplicação de metodologia estatística apropriada, associadas às avaliações genéticas, após edição das bases de dados de registros produtivos, reprodutivos e de genealogia de animais dos rebanhos supervisionados pelas respectivas associações de criadores das raças leiteiras.

O acervo de registros disponibilizados pela ABCBRH caracteriza bases de dados distintas, com diferentes formatos, que após editadas são submetidas aos processos analíticos, com metodologias específicas, gerando novas bases de dados, com outras estruturas e formatos. No seu conjunto caracterizam o *big data* (Cole et al., 2012) do sistema de avaliação genética da raça Holandesa no Brasil. O gerenciamento deste sistema envolve a definição de procedimentos para recepção, validação, atualização e disponibilização dos registros ou bases de dados para as aplicações pertinentes ao sistema de avaliação. Uma destas bases de dados é a de animais, cuja edição está orientada, inicialmente, para a estruturação do pedigree, componente crítico da modelagem estatística associada às avaliações genéticas (Mrode; Thompson, 2014).

O objetivo deste estudo foi desenvolver um procedimento informatizado para a edição, validação e armazenamento dos registros genealógicos de animais registrados pela ABCBRH, para sua integração com as demais bases de dados utilizadas nas aplicações da avaliação genética e na disponibilização de seus resultados. Os resultados expostos a seguir vão ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, contribuindo para o alcance do seguinte objetivo específico: ODS 8 - Empregos dignos e crescimento econômico: promover o crescimento econômico sustentado, inclusivo e sustentável, emprego pleno e produtivo, e trabalho decente para todos.

Material e métodos

O estudo foi desenvolvido com registros zootécnicos disponibilizados pela ABCBRH, obtidos de animais da raça Holandesa, em rebanhos supervisionados pelo seu Serviço de Registro Genealógico.

Um banco de dados (Korth; Silberschartz, 1993) representa a integração do conjunto das bases de dados que no contexto de suas estruturas devem apresentar características, que definem os seguintes processos: a) Modularização: estrutura caracterizada por módulos (ou bases de dados) fisicamente independentes, mas logicamente associados; b) Crítica: na fase de entrada/atualização de registros, dos valores fornecidos, com emissão de mensagem/relatório para a sua verificação e correção, se necessárias; c) Armazenamento: dos registros em bases de dados interdependentes, com mecanismos para garantir a segurança, integridade, acesso e disponibilização; d) Hardware/Software: desenvolvimento dos processos em ambiente operacional.

Neste estudo, o desenvolvimento foi realizado em ambiente Windows®, com os programas Sistema Gerenciador de Banco de Dados PostgreSQL 9.6 (The PostgreSQL Global Development Group, 2023), Servidor Web Apache 2.4 (Apache, 2023) e linguagem de programação Web PHP 5.6 (Cowburn, 2023), como ilustrado na Figura 1.

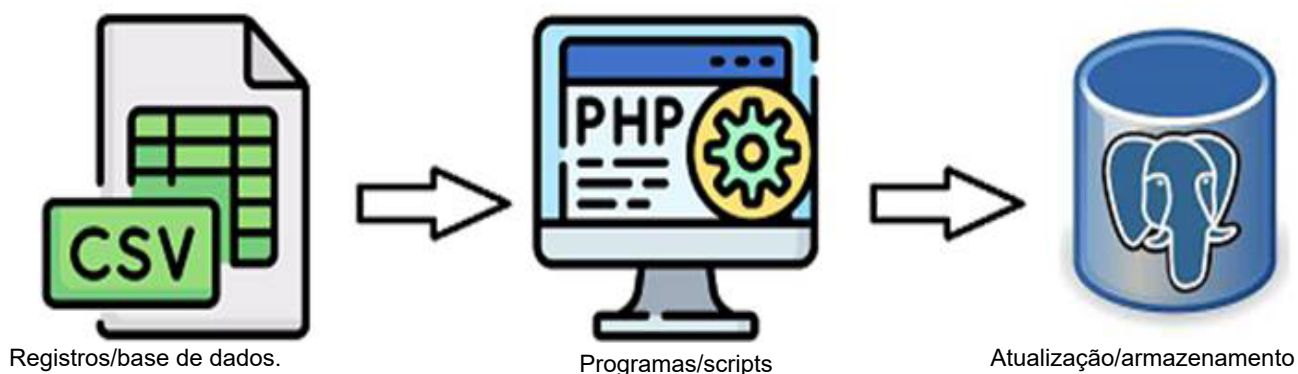


Figura 1. Ilustração do processo de tratamento de registros de bases de dados de registros genealógicos de animais da raça Holandesa, desenvolvido neste estudo.

Resultados e discussão

Todo registro recebido (em planilhas formato CSV) é submetido, previamente, a um processo de conformidade (programas/scripts em PHP), que objetiva garantir a integridade e coerência dos registros a serem armazenadas com aqueles já existentes (em ambiente PostGreSQL), conforme o respectivo modelo de dados. A Figura 2, abaixo, ilustra as fases de operacionalização deste processo.

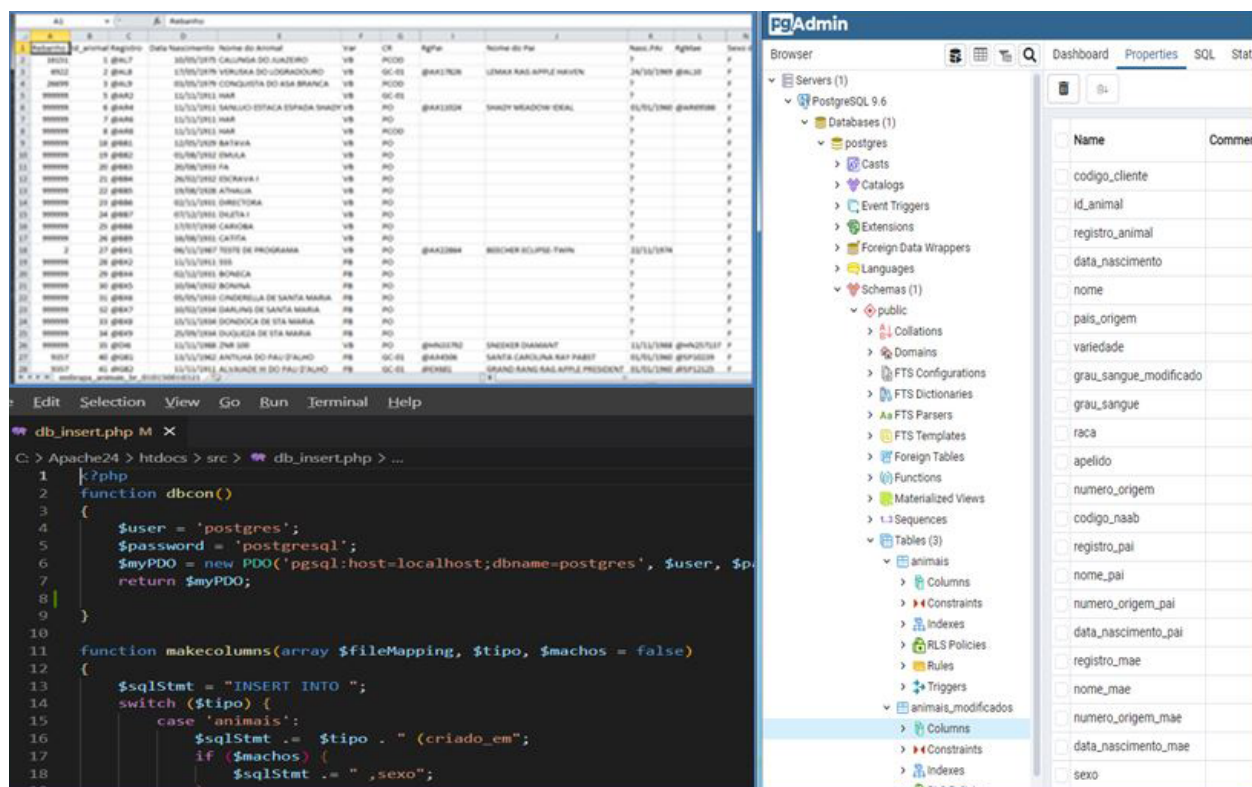


Figura 2. Ilustração do processo de tratamento de registros genealógicos de animais da raça Holandesa: a) dados recebidos (painel esquerdo, superior); b) script de validação (painel esquerdo, inferior); e, c) armazenamento/gestão em banco de dados (painel direito).

Neste processo são gerados três arquivos, para posterior tratamento dos dados: registros com informações ausentes ou erros, para correção; registros não conformes com as estruturas, para ajustes; e registros validados, para atualização das bases dados já existente. A descrição preliminar deste processo é apresentada por Vieira (2022).

Conclusões

O procedimento desenvolvido representa um avanço no processo de validação da integridade dos registros de genealogia, essenciais para a estruturação do pedigree que é um componente crítico e fundamental da avaliação genética, pois impacta a precisão das estimativas de valor genético dos animais.

Substituindo o arcabouço de programas que atualmente realizam a validação de tais registros, poderão oferecer maior rapidez, segurança e integridade no seu processamento e disponibilização para as aplicações pertinentes ao sistema de avaliação genética.

Agradecimentos

Ao apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil. Parte do projeto INCT de Ciência Animal, Processo CNPq 465377/2014-9/Rede 7 Avaliação e seleção de bovinos leiteiros nos trópicos

À ABCBRH pela disponibilidade dos dados utilizados neste estudo. À Embrapa Gado de Leite pela oportunidade da bolsa recebida do Programa Pibic, o que nos proporcionou obter experiência e aprendizado; ao pesquisador Cláudio Napolis Costa pelo acompanhamento, orientação e apoio durante o período de estudos e treinamento.

Referências

APACHE. **Servidor HTTP Apache Versão 2.4**: documentação do servidor HTTP Apache versão 2.4. Disponível em: <https://httpd.apache.org/docs/2.4/>. Acesso em: 10 ago. 2023.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA. Disponível em: <https://www.gadoholandes.com.br>. Acesso em: 10 ago. 2023.

COLE, J. B.; NEWMAN, S.; FOERTTER, F.; AGUILAR, I.; COFFEY, M. Breeding and genetics symposium: really big data: processing and analysis of very large data sets. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 3, p. 723-733, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.2527/jas.2011-4584>.

COWBURN, P. (ed.). **Manual do PHP**. Disponível em: https://www.php.net/manual/pt_BR/index.php. Acesso em: 10 ago. 2023.

KORTH, H. F.; SILBERSCHARTZ, A. **Sistema de Banco de Dados**. 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1993.

MRODE, R. A.; THOMPSON, R. **Linear models for the prediction of animal breeding values**. 2. ed. Oxfordshire: Cabi, 2014.

THE POSTGRESQL GLOBAL DEVELOPMENT GROUP. **PostgreSQL 15.5 documentation**. Disponível em: <https://www.postgresql.org/files/documentation/pdf/15/postgresql-15-A4.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2023.

VIEIRA, K. C. **Descrição da aplicação e banco de dados**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2022. 12 p. Esboço.

Digestibilidade em bezerros leiteiros aos 28 dias de vida submetidos ao estresse térmico por calor e amplitude térmica

Alina Vaz das Graças⁽¹⁾, Mariana Brito Gomes⁽²⁾, Luiz Felipe Martins⁽³⁾, Anna Luiza Lacerda Sguizzato⁽⁴⁾, Sandra Gesteira Coelho⁽⁵⁾, Thierry Ribeiro Tomich⁽⁶⁾, Mariana Magalhães Campos^(6,7)

⁽¹⁾Bolsista Pibic CNPq, graduanda em Medicina Veterinária - UFJF, Juiz de Fora, MG. e-mail: vazdasgracasalina@gmail.com, ⁽²⁾Mestre em Zootecnia - UFMG, Belo Horizonte, MG, ⁽³⁾Doutor em Zootecnia - UFMG, Belo Horizonte, MG, ⁽⁴⁾Pós-doutoranda Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, ⁽⁵⁾Professora titular da Escola de Veterinária UFMG, Belo Horizonte, MG, ⁽⁶⁾Pesquisador(a) Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, ⁽⁷⁾Orientadora

Resumo- O estresse térmico impacta negativamente a produção de bovinos leiteiros, sendo impreterível entender como as temperaturas afetam a digestibilidade em bezerros. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do estresse por calor e amplitude térmica na digestibilidade em bezerros holandeses aos 28 dias de vida. Cinquenta e dois bezerros foram distribuídos em três grupos onde receberam, aleatoriamente, um de três tratamentos: controle – CON (n = 17), estresse por amplitude térmica - EAT (n = 17) e estresse térmico por calor - ETC (n = 18). O grupo CON foi mantido em câmara climática com ITU = 66, temperatura média (T) de 22 °C e umidade relativa (UR) de 65%, durante 24 horas/dia. O grupo EAT foi mantido em câmara climática das 06:31 h às 15:30 h - ITU = 84, T = 32 °C e UR = 65%; das 15:31 h às 18:30 h - ITU = 66, T = 22 °C e UR = 65%; das 18:31 h às 03:30 h – ITU = 54, T = 14 °C e UR = 65%; e 03:31 h às 06:30 h – ITU = 66, T = 22 °C e UR = 65%. E o grupo ETC foi mantido em câmara climática das 06:31 h às 15:30 h - ITU = 82, T = 32 °C e UR = 65%, e das 15:31 h às 06:30 h com ITU = 66, T = de 22 °C e UR = de 65%. Não houve diferença na digestibilidade, exceto pelo extrato etéreo, que foi menor para os animais no estresse por calor. Portanto, o estresse por calor causa menor digestibilidade do extrato etéreo de bezerros lactentes.

Termos para indexação: estresse por calor, Holandês, nutrientes, variação de temperatura.

Digestibility in dairy calves at 28 days of life submitted to heat stress and thermal amplitude

Abstract- Thermal stress impacts the production of dairy cattle. Thus, it is imperative to understand how temperatures affected digestibility in calves. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of heat stress and thermal amplitude on the digestibility in Holstein calves at 28 days of age. Fifty-two calves were distributed into three groups where they received, randomly, one of three treatments: control - CON (n = 17), thermal amplitude stress - EAT (n = 17), and heat stress - ETC (n = 18). The CON group was kept in a climatic chamber with THI = 66, mean temperature (T) of 22 °C and relative humidity (RH) of 65%, throughout the day. The EAT group was kept in a climatic chamber from 06:31 h to 15:30 h - THI = 84, T = 32 °C and RH = 65%; from 3:31 pm to 6:30 pm - THI = 66, T = 22 °C and

RH = 65%; from 6:31 pm to 3:30 am – THI = 54, T = 14 °C and RH = 65%; and 03:31 h to 06:30 h – THI = 66, T = 22 °C and RH = 65%. The ETC group was maintained in a climatic chamber from 06:31 h to 15:30 h - THI = 82, T = 32 °C and RH = 65%, and from 15:31 h to 06:30 h with THI = 66, T = 22 °C and RH = 65%. There was no difference digestibility, except for ether extract, which was lower for animals under heat stress. In conclusion, heat stress causes lower digestibility of ether extract from suckling calves.

Index terms: nutrients, heat stress, Holstein, temperature variation.

Introdução

Fornecer boas condições de saúde, ambientais, nutricionais e de manejo para bezerros são pontos fundamentais para que esses animais tenham um crescimento adequado e atinjam seu potencial produtivo. No entanto, os estresses térmicos por calor, pelo frio e pela amplitude térmica podem afetar negativamente a digestibilidade e, conseqüentemente, o desempenho animal.

O estresse térmico ocorre quando as temperaturas externas estão acima ou abaixo da zona termoneutra do animal, que para bezerros se dá entre 13 °C e 26 °C (Collier et al., 2019). Quando os valores estão fora dessa faixa, mecanismos fisiológicos são ativados na tentativa de manter a homeotermia dos animais (Robertshaw, 2017). Já a amplitude térmica é a variação entre a máxima e mínima temperatura em um dado período. Alguns autores relataram efeitos negativos do estresse térmico no consumo de matéria seca, desempenho zootécnico e ganho médio diário em bezerros e novilhas (Rauba et al., 2019; Wang et al., 2020). Yadav et al. (2013) descreveram o aumento da digestibilidade em novilhas submetidas ao estresse térmico, e apontou a retenção do alimento no rúmen e a redução do consumo de matéria seca como causas para a maior digestibilidade. Entretanto, Yazdi et al. (2016) não observaram diferença na digestibilidade em bezerros holandeses estressados termicamente pelo calor. Dessa forma, torna-se necessário estudar os impactos do estresse térmico por calor e pela amplitude térmica sobre a digestibilidade em bezerros leiteiros.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do estresse por calor e pela amplitude térmica na digestibilidade em bezerros holandeses aos 28 dias de vida. Diante dos resultados a seguir apresentados, esta publicação vai ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, nos seguintes objetivos específicos: ODS 2: “Acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável; ODS 12: “Assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis”.

Material e métodos

O experimento e os procedimentos realizados ao longo do trabalho foram devidamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Embrapa Gado de Leite (nº 4115231121). O estudo foi conduzido no Laboratório Multiusuário de Bioeficiência e Sustentabilidade da Pecuária (LMBS), localizado no Campo Experimental José Henrique Bruschi, da Embrapa Gado de Leite, em Coronel Pacheco - MG.

Após o nascimento os animais foram encaminhados para o LMBS, onde foi realizado o manejo inicial padrão para recém-nascidos: cura do umbigo com iodo a 10% e duas

colostragens – 1ª: 10% do peso vivo (PV) com brix de 25°; 2ª: 5% do PV – por sonda oroesofágica. Posteriormente, os animais foram alojados em câmara climática e iniciaram o consumo de leite de transição (3 litros pela manhã e tarde), por três dias, seguindo para o leite integral na mesma quantidade. Água e concentrado foram fornecidos à vontade desde o primeiro dia de vida.

O experimento foi conduzido utilizando o delineamento inteiramente casualizado (DIC) de forma que os tratamentos foram aleatoriamente distribuídos aos animais de 3 grupos: controle - CON (n = 17); estresse por amplitude térmica - EAT (n = 17); e estresse térmico por calor - ETC (n = 18). O grupo CON foi mantido em câmara climática com índice médio de temperatura e umidade (ITU) igual a 66, temperatura média (T) de 22 °C e umidade relativa (UR) de 65% durante 24 horas/dia. O grupo EAT foi mantido em câmara climática das 06:31 h às 15:30 h com ITU = 84, T = 32 °C e UR = 65%; das 15:31 h às 18:30 h – ITU = 66, T = 22 °C e umidade relativa de 65%; 18:31 h às 03:30 h - ITU = 54, T = 14 °C e UR = 65% e 03:31 h às 06:30 h - ITU = 66, T = 22 °C e UR = 65%; totalizando 9 h de calor, 3 h de termoneutralidade, 9 h de frio e 3 h de termoneutralidade. O grupo ETC foi mantido em câmara climática das 06:30 h às 15:30 h - ITU = 82,0, T = 32 °C e UR = 65%; totalizando 9 h no calor e 15 h em termoneutralidade.

O ensaio de digestibilidade foi realizado entre os 23º dias e 26º dias de vida, onde os animais foram mantidos em baias de piso emborrachado e as fezes totais coletadas, diariamente, por três dias. As fezes eram identificadas e armazenadas em freezer a – 20 °C e posteriormente descongeladas. Uma amostra composta dos três dias foi obtida e levada para a secagem em estufa. Também foram coletadas as amostras do leite, concentrado oferecido e das respectivas sobras. As amostras de alimentos e fezes foram submetidas à secagem em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72 horas e moídas em moinho Willey (modelo 3, Arthur H. Thomas Co., Filadélfia, PA), utilizando peneira de 1 mm. As amostras de leite coletadas durante a digestibilidade foram homogeneizadas, obtendo-se uma amostra composta que, posteriormente, foi liofilizada e macerada para a análise dos nutrientes. As análises foram conduzidas de acordo com os métodos da AOAC International (2012) para cálculo da digestibilidade dos nutrientes: Matéria Seca - MS (Método 934.01), Proteína Bruta - PB (Método 988.05), Extrato Etéreo - EE (Método 920.39), Cinzas (Método 942.05); e por diferença a Matéria Orgânica - MO. Os dados foram analisados por meio do PROC GLIMMIX do SAS (Statistical Analysis Systems, versão 9.3) e as médias dos tratamentos estresse por amplitude térmica e estresse térmico por calor foram comparadas com o grupo controle (CON) utilizando o teste Dunnett. As diferenças entre médias foram consideradas significativas quando $P < 0,05$.

Resultados e discussão

A digestibilidade (MS, MO e PB) não foi diferente entre os grupos avaliados ($P \geq 0,14$), exceto pelo extrato etéreo, que apresentou menor digestibilidade para o grupo ETC, quando comparado ao CON e EAT ($P = 0,02$; Tabela 1). Yazdi et al. (2016) também não observaram diferença na digestibilidade em bezerros holandeses estressados por calor. Para os autores, a digestibilidade em bezerros não está associada à redução do consumo de matéria seca ou mudança na passagem ruminal e ingestão de água. Entretanto, alguns autores consideram a alteração no consumo de água e alimentos e o tempo de permanência no rúmen os principais fatores que afetam a digestibilidade (Robertshaw, 1981; Schneider et al., 1988; Nonaka et al., 2008).

Tabela 1. Digestibilidade em bezerros do grupo controle, estresse por amplitude térmica e estresse por calor aos 28 dias de vida.

Nutrientes (g/kg) ¹	Tratamento			EPM ²	P – valor ³
	Controle	Estresse por amplitude térmica	Estresse por calor		
MS	969,52	955,18	947,85	0,008	0,14
MO	996,15	994,06	993,47	0,001	0,17
PB	926,58	890,87	894,89	0,023	0,43
EE	977,60a	962,27a	933,74b	0,011	0,02

¹ MS = matéria seca, MO = matéria orgânica, PB = proteína bruta, EE = extrato etéreo; ² EPM = erro padrão da média; ³ P-valor indica efeito de tratamentos ($P < 0,05$) - comparação do tratamento amplitude térmica e estresse por calor com o tratamento controle.

Gaafar et al. (2021) relataram queda na digestibilidade da MS, MO, PB e do EE de bezerros em estresse térmico quando comparados a bezerros em zona termoneutra. Nesse estudo, os bezerros foram avaliados durante o inverno (zona termoneutra) e verão (estresse por calor) e foi observada maior digestibilidade no inverno. Os autores apontam a diluição do conteúdo ruminal, causada pelo aumento da ingestão de água, e a diminuição da absorção de nutrientes no rúmen e intestino devido à queda no suprimento sanguíneo como causas para a redução da digestibilidade no verão. Assim como apontado por Gaafar et al. (2021), observamos menor digestibilidade do EE no grupo ETC, o que pode ser uma resposta adaptativa do trato gastrointestinal ao estresse por calor, além da associação à alta proporção de leite na dieta total desses animais e, possivelmente, à maior produção endógena de EE.

Conclusões

Condições de estresse térmico por calor ou amplitude térmica não alteram a digestibilidade em bezerros lactentes, exceto pela digestibilidade do extrato etéreo, que é reduzida pelo estresse térmico por calor.

Agradecimentos

À doutora Mariana Magalhães Campos pela oportunidade, aos meus amigos de estágio, aos alunos de pós-graduação pelos ensinamentos e a toda equipe do Laboratório Multiusuário de Bioeficiência e Sustentabilidade da Pecuária.

Ao apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil: (a) Parte do projeto CNPq “Amplitude térmica em bezerros leiteiros: microbioma, partição energética, desempenho, resposta imune e impacto econômico”, liderado por Mariana Magalhães Campos; parte da dissertação de mestrado do segundo autor; e parte do projeto CNPq “Efeito do estresse térmico pelo calor em bezerros leiteiros, durante a fase neonatal, sobre o comportamento alimentar, consumo, digestibilidade, participação de energia, desempenho e resposta imune”, liderado por Sandra Gesteira Coelho; parte da tese de doutorado do terceiro autor.

Referências

AOAC INTERNATIONAL. **Official methods of analysis**. 19. ed. Gaithersburg, 2012.

COLLIER, R. J.; BAUMGARD, L. H.; ZIMBELMAN, R. B.; XIAO, Y. Heat stress: physiology of acclimation and adaptation. **Animal Frontiers**, v. 9, n. 1, p. 12-19, 2019. DOI: <http://doi.org/10.1093/af/vfy031>.

GAAFAR, H. M. A.; NAHRAWY, M. M.; MESBAH, R. A.; SHAMS A. S. H.; SAYED S. K.; ANAS, A. A. B. Impact of heat stress on growth performance and some blood and physiological parameters of suckling friesian calves in Egypt. **International Journal of Plant, Animal Environmental Sciences**, v. 11, p. 545-565, 2021. DOI: <http://doi.org/10.26502/ijpaes.202121>.

NONAKA, I.; TAKUSARI, N.; TAJIMA, K.; SUZUKI, T.; HIGUCHI, K.; KURIHARA, M. Effects of high environmental temperatures on physiological and nutritional status of prepubertal Holstein heifers. **Livestock Science**, v. 113, n. 1, p. 14-23, 2008. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.02.010>.

RAUBA, J.; HEINS, B. J.; CHESTER-JONES, H.; DIAZ, H. L.; ZIEGLER, D.; LINN, J.; BROADWATER, N. Relationships between protein and energy consumed from milk replacer and starter and calf growth and first-lactation production of Holstein dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 102, n. 1, p. 301-310, 2019. DOI: <http://doi.org/10.3168/jds.2018-15074>.

ROBERTSHAW, D. The environmental physiology of animal production. In: CLARK, J. A. (ed.). **Environmental aspects of housing for animal production**. London: Butterworths, 1981. p. 3-17.

ROBERTSHAW, D. Regulação da temperatura e o ambiente térmico. In: DUKES, H. H. **Fisiologia dos animais domésticos**. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. p. 897-908.

SCHNEIDER, P. L.; BEEDE, D. K.; WILCOX, C. J. Nycterohemeral patterns of acid-base status, mineral concentrations and digestive function of lactating cows in natural or chamber heat stress environments. **Journal of Animal Science**, v. 66, n. 1, p. 112-125, 1988. DOI: <http://doi.org/10.2527/jas1988.661112x>.

WANG, J.; LI, J.; WANG, F.; XIAO, J.; WANG, Y.; YANG, H.; LI, S.; CAO, Z. Heat stress on calves and heifers: a review. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 11, article 79, 2020. DOI: <http://doi.org/10.1186/s40104-020-00485-8>.

YADAV, B.; SINGH, G.; VERMA, A.; DUTTA, N.; SEJIAN, V. Impact of heat stress on rumen functions. **Veterinary World**, v. 6, n. 12, p. 992-996, 2013.

YAZDI, M. H.; MIRZAEI-ALAMOUTI, H. R.; AMANLOU, H.; MAHJoubi, E.; NABIPOUR, U.; AGHAZIARATI, N.; BAUMGARD, L. H. Effects of heat stress on metabolism, digestibility, and rumen epithelial characteristics in growing Holstein calves. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. 1, p. 77-89, 2016. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9364>.

Efeito residual do estresse por amplitude térmica e estresse térmico por calor no desempenho e desenvolvimento corporal de bezerros leiteiros da raça Holandesa entre 30 e 90 dias de idade

Laura Alice De Jesus Silva⁽¹⁾, Mariana Brito Gomes⁽³⁾, Carlos Eugênio Martins⁽²⁾, Luiz Felipe Martins Neves⁽⁴⁾, Jaciara Diavão⁽⁵⁾, Sandra Gesteira Coelho⁽⁶⁾, Mariana Magalhães Campos⁽⁷⁾, Fernanda Samarini Machado^(7,8)

⁽¹⁾Bolsista Pibic CNPq, Graduanda em Medicina Veterinária – UFJF, Juiz de Fora, MG. e-mail: laura.alice.j.s@gmail.com, ⁽²⁾Mestranda do PPG em Zootecnia – EV/UFMG, Belo Horizonte, MG, ⁽³⁾Doutorando do PPG em Zootecnia – EV/UFMG, Belo Horizonte, MG, ⁽⁴⁾Pós-doutorando – Embrapa Gado de Leite, Coronel Pacheco, MG, ⁽⁵⁾Professora titular da Escola de Veterinária – UFMG, Belo Horizonte, MG, ⁽⁶⁾Pesquisadora Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, ⁽⁷⁾Orientadora

Resumo- Objetivou-se avaliar o impacto do estresse térmico por calor e pela amplitude térmica nos primeiros 28 dias de idade sobre o desempenho e desenvolvimento corporal em bezerros da raça Holandesa entre 30 e 90 dias de idade. Os animais foram distribuídos em três tratamentos, entre o nascimento até 28 dias de idade em câmara climática: i) Zona termoneutra (ZT) – (n=17) com índice de temperatura e umidade (ITU) de 66 por 24 h/dia; ii) Estresse por amplitude térmica (EAT) – (n=17) ITU 84 das 06:31 às 15:30; ITU de 66 das 15:31 às 18:30; ITU 54 das 18:31 às 03:30; ITU 66 das 03:31 às 06:30; iii) Estresse por calor (EC) – (n=18) ITU 84 por 9 h/dia e ITU 66 por 15 h/dia (zona termoneutra). Aos 29 dias de idade os animais foram transferidos para galpão com baias individuais e mantidos em condições ambientes semelhantes entre os grupos. Os animais foram pesados aos 30, 60 e 90 dias de idade, em balança mecânica. Para acompanhamento do desenvolvimento corporal, a cada sete dias, os animais foram colocados em brete para contenção e as medidas foram realizadas com trena e fita métrica. As mensurações foram: largura de garupa; altura de cernelha e perímetro torácico. Todos os dados foram analisados utilizando o procedimento glimmix do SAS, 2013 (version 9.4, SAS Institute. Inc., Cary, NC, USA). Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos no ganho de peso e desenvolvimento corporal. O estresse térmico por calor e pela amplitude térmica nos primeiros 28 dias de idade não tiveram impacto residual negativo no desenvolvimento corporal de bezerros da raça Holandesa entre 30 e 90 dias de idade.

Termos para indexação: clima tropical, ganho médio diário, mecanismo compensatório, temperatura.

Residual impact of heat stress and temperature range in the first 28 days of age on performance and body development of Holstein calves between 30 and 90 days of age

Abstract- The objective was to evaluate the impact of heat stress and thermal amplitude in the first 28 days of age on performance and body development in Holstein calves between 30 and 90 days of age. The animals were distributed into three treatments, between birth and 28 days of age in a climatic chamber: i) Thermoneutral zone (ZT) with temperature and humidity index (THI) of 66 per 24 h/day; ii) thermal amplitude stress (EAT) THI 84 from 06:31 to 15:30; THI of 66 from 15:31 to 18:30; THI 54 from 18:31 to 3:30; THI 66 from 03:31 to 06:30; iii) Heat stress (EC) THI 84 for 9 h/day and THI 66 for 15 h/day (thermoneutral zone). At 29 days of age, the animals were transferred to a shed with individual pens and kept in similar environmental conditions between groups. The animals were weighed at 30, 60 and 90 days of age using a mechanical scale. To monitor body development, every seven days, the animals were placed in a station and measurements were taken with a measuring tape and tape. The measurements were: rump width; height at withers and thoracic girth. All data were analyzed using the SAS glimmix procedure, 2013 (version 9.4, SAS Institute. Inc., Cary, NC, USA). There was no significant difference ($P > 0.05$) between treatments in weight gain and body development. Heat stress and thermal amplitude in the first 30 days of age had no residual negative impact on the body development of Holstein calves between 30 and 90 days of age.

Index terms: average daily gain, compensatory mechanism, temperature, tropical climate.

Introdução

O estresse térmico promove efeitos negativos na produção animal, com maior impacto em países de clima tropical. Alguns períodos como o neonatal, novilhas em fase reprodutiva e lactação são os mais sensíveis ao estresse térmico (Collier et al., 1982).

A termorregulação em bezerros é semelhante à de bovinos adultos, porém bezerros jovens são mais propensos à perda de calor (Roland et al., 2016) e sua zona termoneutra varia entre 5 e 20 °C nas raças leiteiras, havendo respostas diferentes entre animais (National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, 2021). Bezerros recém-nascidos da raça Holandesa em estresse pelo frio (- 4°C) apresentaram menores ganho médio diário (GMD), frequência respiratória, ingestão de água e temperatura retal comparado aos animais em zona termoneutra (Scibilia et al., 1987); ademais, os indivíduos nessa condição necessitam de mais energia para manutenção, o que gera aumento no consumo de matéria seca (CMS) para produção de calor (Roland et al., 2016). Já o estresse por calor gera redução do CMS, do tempo de pastejo e conseqüentemente do ganho de peso, ao passo que ocorre aumento do consumo de água (Roland et al., 2016).

Nos países de clima tropical, o estresse térmico por calor e por amplitude térmica ainda é um desafio. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito no desempenho e desenvolvimento corporal entre 30 e 90 dias de idade de bezerros holandeses quando submetidos a estresse por calor e pela amplitude térmica do nascimento até 28 dias de idade. Diante dos resultados apresentados a seguir, esta publicação vai ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela

Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, contribuindo para o alcance dos seguintes objetivos específicos: ODS 2: “Acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável; ODS 12: “Assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis”; ODS 13: “Combate às Mudanças Climáticas: Tomar medidas urgentes para combater a mudança climática e seus impactos”.

Material e métodos

Todos os procedimentos realizados foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Embrapa Gado de Leite, sob protocolo nº 4115231121. O experimento foi conduzido no Laboratório Multiusuário de Bioeficiência e Sustentabilidade da Pecuária, no Campo Experimental José Henrique Bruschi, propriedade da Embrapa Gado de Leite, em Coronel Pacheco - MG. Foram utilizados 52 bezerros (22 machos e 30 fêmeas) da raça Holandesa avaliados até os 90 dias de vida. O experimento foi conduzido sob delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos entre o nascimento até 28 dias de idade em câmara climática: i) Zona termoneutra (ZT) com índice de temperatura e umidade (ITU) de 66 por 24 h/dia; ii) estresse por amplitude térmica (EAT) ITU 84 das 06:31 às 15:30; ITU 66 das 15:31 às 18:30; ITU 54 das 18:31 às 03:30; ITU 66 das 03:31 às 06:30; iii) Estresse por calor (EC) ITU 84 por 9 h/dia e ITU 66 por 15 h/dia (zona termoneutra). Aos 29 dias de idade os animais foram transferidos para galpão com baias individuais e mantidos em condições ambientes semelhantes entre os grupos. Os animais foram pesados aos 30, 60 e 90 dias de idade, em balança mecânica (ICS 300, Coimma, Dracena, Brasil). Para acompanhamento do desenvolvimento corporal, a cada sete dias, os animais foram colocados em brete de contenção e as medidas realizadas com trena e fita métrica com marcação de 0 a 150 cm. As mensurações foram: largura de garupa [(LG); distância entre as pontas dos íleos]; altura de cernelha [(AT); distância entre o chão até a cernelha] e perímetro torácico [(PT); circunferência do tórax logo após as escápulas, sobre o externo].

Todos os dados foram analisados utilizando o procedimento glimmix do SAS, 2013 (version 9.4, SAS Institute. Inc., Cary, NC, USA). Para a análise de variância, os tratamentos, idade e suas interações foram considerados como efeitos fixos, e as repetições e sexo como efeitos aleatórios. A idade (30, 60 e 90 dias) foi incluída no modelo como medida repetida no tempo utilizando o comando REPEATED do SAS. As médias de tratamento foram estimadas pelo LSMEANS no teste de Dunnet para comparação com o tratamento ZT, e comparadas pelo teste de Tukey para idade e interação entre tratamento e idade ($P \leq 0,05$).

Resultados e discussão

Não houve diferença significativa entre os tratamentos EC, AT e ZT ($P < 0,05$) para todas as variáveis avaliadas. O peso corporal, LG, AC, PT e o ganho médio diário (GMD) foram influenciados pela idade ($P < 0,01$; Tabela 1).

Tabela 1. Efeito do estresse por amplitude térmica e estresse térmico por calor no desempenho e desenvolvimento corporal de bezerros leiteiros da raça Holandesa entre 30 e 90 dias de idade.

Item	Tratamentos			EPM	P-valor ²		
	Zona termoneutra	Calor	Amplitude térmica		Trat	Idade	Trat x Idade
Peso ao nascimento (kg)	35,6	36,0	34,6	1,56	-	-	-
Peso final (kg)	79,1	80,1	78,4	1,19	0,29	<0,01	0,34
Ganho médio diário (g/dia)	823	816	798	0,025	0,68	<0,01	0,13
Largura de garupa (cm)	27,1	26,8	26,9	0,20	0,69	<0,01	0,31
Altura de cernelha (cm)	90,1	90,5	90,4	0,32	0,65	<0,01	0,79
Perímetro torácico (cm)	97,9	97,2	96,9	0,41	0,16	<0,01	0,58
15,14	16,73	11,07	8,12				0,002

¹EPM, erro padrão da média; ²P-valor: Trat, efeito de tratamento; Idade, efeito da idade; Trat x Idade, efeito da interação entre tratamento e idade.

Não houve influência dos tratamentos no desenvolvimento corporal dos bezerros, sugerindo que bezerros utilizam mecanismos compensatórios, como elevação da frequência respiratória e sudorese, resultando em aumento do metabolismo energético (Farooq et al., 2010). Em contraste com o presente estudo, bezerros nascidos no inverno tiveram o dobro do GMD quando comparados com os nascidos no verão (Habeeb et al., 2020) e redução de 89% quando submetidos à amplitude térmica (Scibilia et al., 1987). Bezerros e novilhas em estresse térmico respondem significativamente a mudanças fisiológicas e metabólicas, em que os neurônios sensíveis à temperatura enviam informações ao hipotálamo na tentativa de promover o equilíbrio térmico, produzindo, assim, respostas comportamentais e fisiológicas (Wang et al., 2020).

Segundo Pandey et al. (2017) e Dado-Senn et al. (2020) os bezerros aumentam a frequência cardíaca e respiratória como mecanismo compensatório, visando aumentar a perda de calor interno e a troca de calor com o ambiente. No entanto animais criados em clima tropical parecem ter mecanismos de compensação mais eficientes na perda ou ganho de calor.

Conclusões

O desempenho e desenvolvimento corporal de bezerros da raça Holandesa entre 30 e 90 dias não são alterados quando submetidos ao estresse térmico por calor ou pela amplitude térmica nos primeiros 28 dias de vida.

Agradecimentos

Agradecimento ao CNPq, à Embrapa Gado de Leite, às doutoras Mariana de Magalhães Campos e Fernanda Samarini Machado, aos pós-graduandos Luiz Felipe Neves e Mariana Gomes e à pós-doutoranda Jaciara Diavão, por toda ajuda e troca de conhecimentos, e à equipe do Campo Experimental.

Referências

COLLIER, R. J.; BEEDE, D. K.; THATCHER, W. W.; ISRAEL, L. A.; WILCOX, C. J. Influences of environment and its modification on dairy animal health and production. **Journal of Dairy Science**, v. 65, n. 11, p. 2213-2227, 1982. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(82\)82484-3](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(82)82484-3).

DADO-SENN, B.; OUELLET, V.; DAHL, G. E.; LAPORT, J. Methods for assessing heat stress in preweaned dairy calves exposed to chronic heat stress or continuous cooling. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 9, p. 8587-8600, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18381>.

FAROOQ, U.; SAMAD, H. A.; SHEHZAD, F.; QAYYUM, A. Physiological responses of cattle to heat stress. **World Applied Sciences Journal**, v. 8, p. 38-43, 2010.

HABEEB, A. A.; EL-MASRY, K. A.; GAD, A. E. Changes in body water and solids contents in native and crossbreed growing calves during winter and hot summer seasons of Egypt. **Journal of Animal Behaviour and Biometeorology**, v. 8, n. 1, p. 17-24, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.31893/jabb.20002>.

NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING, AND MEDICINE. **Nutrient Requirements of dairy cattle. 8th ed. rev. Washington**: The National Academies Press, 2021. DOI: <https://doi.org/10.17226/25806>.

PANDEY, P.; HOODA, O. K.; KUMAR, S. Impact of heat stress and hypercapnia on physiological, hematological, and behavioral profile of Tharparkar and Karan Fries heifers. **Veterinary World**, v. 10, n. 9, p. 1146-1155, 2017.

ROLAND, L.; DRILLICH, M.; KLEIN JÖBSTL, D.; IWERSEN, M. Invited review: Influence of climatic conditions on the development, performance, and health of calves. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 2438-2452, 2016.

SCIBILIA, L. S.; MULLER, L. D.; KENSINGER, R. S.; SWEENEY, T. F.; SHELLENBERGER, P. R. Effect of environmental temperature and dietary fat on growth and physiological responses of newborn calves. **Journal of Dairy Science**, v. 70, n. 7, p. 1426-1433, 1987. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(87\)80165-0](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(87)80165-0).

WANG, J.; LI, J.; WANG, F.; XIAO, J.; WANG, Y.; YANG, H.; LI, S.; CAO, Z. Heat stress on calves and heifers: a review. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 11, article 79, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40104-020-00485-8>.

Estudo de dose-resposta de beta-glucana em bezerros: resultados iniciais

Gabriella B. Esteves⁽¹⁾, Rafaella S. S. Zanette⁽²⁾, Danielle S. C. Pinto^(2,3), Melissa S. Mongelli^(2,3), Michelle D. A. Loures⁽⁴⁾
Robson S. Barducci⁽⁵⁾, Humberto M. Brandão^(6,7)

⁽¹⁾ graduanda em Ciências Biológicas – UniAcademia – Centro Universitário. E-mail: gabriellabesteves@gmail.com, ⁽²⁾Bolsista Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, ⁽³⁾UFLA, Lavras, MG, ⁽⁴⁾ Analista Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, ⁽⁵⁾Biorigin, ⁽⁶⁾Pesquisador Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. E-mail: humberto.brandao@embrapa.br, ⁽⁷⁾Orientador.

Resumo- A busca por compostos que contribuam para a redução do uso de antibióticos em sistemas de produção de leite tem sido objeto de profundo estudo para prevenir a seleção de bactérias multirresistentes. Especificamente na fase de aleitamento, o bezerro está passando por um intenso processo de adaptação do sistema imune, no qual a imunidade passiva vai gradualmente diminuindo enquanto a imunidade adaptativa é moldada para enfrentar os desafios ambientais. Este é um período da vida do bezerro no qual o uso de imunoestimulantes pode contribuir significativamente para a redução do uso de antibióticos. Especificamente a β -glucana de *Saccharomyces cerevisiae* é capaz de induzir a imunidade treinada em monócitos e macrófagos, portanto com grande aplicabilidade na bovinocultura leiteira. Dentro deste contexto, o presente trabalho tem por objetivo avaliar a atividade bactericida por fagocitose de leucócitos bovinos oriundos de bezerros tratados por 28 dias com β -glucana nas concentrações de 0 mg/kg/dia, 12 mg/kg/dia, 36 mg/kg/dia, 60 mg/kg/dia e 84 mg/kg/dia. Apesar de não ter sido encontrada diferença entre os tratamentos, a atividade fagocitária dos animais tratados com doses diárias de 60 mg/kg e 84 mg/kg foram numericamente mais elevadas. Assim, resultados mais conclusivos só poderão ser obtidos quando analisados em conjunto com resultados de outras análises que estão em andamento.

Termos para indexação: cbeta-glucana; dose-resposta; imunomodulador.

Beta-glucan dose-response study in calves: preliminary results

Abstract- The search for compounds that assist in reducing the use of antibiotics in dairy production systems has been the subject of in-depth study to prevent the selection of multi-resistant bacteria and in the pursuit of sustainability. Specifically in the suckling phase, the calf is undergoing an intense adaptation of the immune system, in which passive immunity gradually decreases. In contrast, adaptive immunity is shaped to face environmental challenges. This is a period in the calf's life in which immunostimulants use can significantly reduce antibiotic usage. Specifically, β -glucan from *Saccharomyces cerevisiae* can induce trained immunity in monocytes and macrophages, thus with great applicability in dairy cattle farming. In this context, the present study aims to evaluate the bactericidal activity by phagocytosis of bovine leukocytes from calves treated with β -glucan for 28 days at concentrations of 0 mg/kg/day, 12 mg/kg/day, 36 mg/kg/day, 60 mg/kg/day, and 84 mg/kg/day. Although no differences were found between the treatments, the phagocytic activity of

animals treated with daily doses of 60 and 84 mg/kg was numerically higher. Therefore, more conclusive results can only be obtained when analyzed in conjunction with other ongoing analyses.

Index terms: beta-glucan; dose-response; immunomodulator.

Introdução

Durante os últimos anos tem crescido a demanda por produtos que possam estimular a capacidade de resposta imune de animais de produção, de modo a promover o bom desempenho produtivo e garantir a homeostase do organismo em uma condição de uso restrito de antibióticos.

Para atender esta demanda crescente de mercado, inúmeras classes de produtos vêm sendo desenvolvidas e colocadas no mercado animal, como, por exemplo, os probióticos, prebióticos, homeopáticos, imunomoduladores e outros mais.

Na bovinocultura leiteira, existem dois momentos críticos nos quais a imunidade do animal é mais exigida, I) em bezerros na fase de desmame, quando a importância da imunidade passiva diminui e a imunidade adquirida assume a relevância principal na defesa do organismo; II) e no período de transição, entre o final de uma lactação e o pós-parto imediato, quando animais de alta produção ficam expostos a desordens metabólicas (*i.e.* hipocalcemia e cetose) que diminuem a capacidade fagocitária das células do sistema imune. Como consequência, em bezerros observam-se elevados índices de pneumonias e diarreias, enquanto as vacas na fase produtiva apresentam elevada taxa de mastite e metrite.

Nesse período o bezerro está passando por um intenso processo de adaptação do sistema imune, no qual a imunidade passiva vai gradualmente diminuindo enquanto a imunidade adaptativa é moldada para enfrentar os desafios ambientais. Cerca de 90% dos casos de diarreia em bezerros ocorrem nos primeiros 150 dias de vida. A diarreia é responsável por cerca de 10 a 30% das mortes de bezerros (Chagas, 2015). Adicionalmente, lesões graves decorrentes de distúrbios entéricos podem acarretar a formação de áreas cicatriciais ao longo do epitélio intestinal, resultando em perda da eficiência absorptiva de nutrientes por toda a vida do animal. Portanto, o período de aleitamento é uma fase da vida do animal no qual o uso de imunomoduladores pode apresentar grandes ganhos biológicos e, portanto, maior potencial de uso.

No que tange aos imunoestimulantes, para atender esse segmento de mercado crescente (alternativas ao uso de antibióticos), a beta-glucana *Saccharomyces cerevisiae* surge como uma alternativa promissora para esta aplicação, o que é respaldado por diversos artigos que demonstram atividade imunomoduladora desse biopolímero em bovinos (Finck et al., 2014; Yuan et al., 2015; Gimenes et al., 2020). Todavia, após uma ampla revisão na literatura, não foram identificados estudos de dose-resposta com beta-glucana nessa espécie, o que pode gerar falhas de uso desse promissor biopolímero na bovinocultura.

Dentro desse contexto, é necessária a realização do estudo de dose-resposta para definir a melhor condição de uso da beta-glucana em bezerros. Assim, o presente trabalho

teve por objetivo avaliar a atividade bactericida por fagocitose de leucócitos bovinos oriundos de bezerros tratados por 28 dias com β -glucana nas concentrações de 0 mg/kg/dia, 12 mg/kg/dia, 36 mg/kg/dia, 60 mg/kg/dia e 84 mg/kg/dia. Os resultados obtidos vão ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, nos seguintes objetivos específicos: ODS 2: “Acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável; ODS 3 - Saúde de qualidade: Assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todos, em todas as idades; ODS 8 - Empregos dignos e crescimento econômico: Promover o crescimento econômico sustentado, inclusivo e sustentável, emprego pleno e produtivo, e trabalho decente para todos; ODS 12: “Assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis”.

Material e métodos

Para a realização do experimento, foram utilizados 35 bezerros girolando (CEUA 8734060422) com sessenta dias de vida, distribuídos aleatoriamente em cinco tratamentos, os quais receberam por via oral 0 mg/kg/dia, 12 mg/kg/dia, 36 mg/kg/dia, 60 mg/kg/dia e 84 mg/kg/dia de β -glucana (Macrogard da Biorigin®) durante 28 dias. No 28º dia os animais foram imunologicamente desafiados por meio da aplicação oral de 1×10^9 UFC de *E. coli*. Cada animal permaneceu no experimento por 33 dias e amostras de sangue periférico foram coletadas nos tempos: 0 dias, 28 dias e 33 dias após o início da administração da β -glucana para avaliar capacidade fagocitária das células mononucleares. As células mononucleares foram obtidas pela técnica de lise de hemácia seguida de centrifugação e cultivo em estufa de CO₂ a 5% por 48 horas (concentração inicial de 4×10^6 leucócitos por poço) (Dorella et al., 2009; Feitosa et al., 2011; Valdivia et al., 2012). Após esse período as células não aderentes foram descartadas para realização do ensaio de fagocitose em co-cultivo de *E. coli* (25.000 UFC/mL). O co-cultivo celular foi realizado em meio RPMI, onde 10 μ L de amostra foi plaqueado em agar BHI para determinar a UFC (unidade formadora de colônias) nos tempos 5 minutos, 10 minutos, 20 minutos e 30 minutos pós inoculação bacteriana.

Resultados e discussão

A fagocitose é considerada a primeira resposta imune inata celular do organismo contra patógenos. Após vinte e quatro horas de cultivo bacteriológico, a porcentagem de UFCs em relação à quantidade inicial foi utilizada para determinar a capacidade fagocitária de monócitos de bovinos tratados com beta-glucana frente a *E. coli* (Tabela 1).

Tabela 1. Teste da capacidade de fagocitose de monócitos de bovinos após administração oral de cinco diferentes doses 0, 12, 36, 60 e 84 mg/kg de peso vivo/dia de beta-glucana (G0, G1, G2, G3 e G4) nos dias 1, 29 e 33 (D01, D29 e D33). Os valores estão representados pela porcentagem média em relação ao controle da contagem do número de colônias de *E. coli* ($p > 0,05$).

Tempo (min) / Tratamento	5 min	10 min	20 min	30 min
G0 D1	92,02899	81,88406	106,5217	108,6957
G0 D28	106,4815	118,5185	117,5926	93,05556
G0 D33	65,15152	59,09091	53,0303	68,18182
G1 D1	88,66667	80,00000	71,33333	86,00000
G1 D28	54,16667	64,93056	70,13889	77,77778
G1 D33	77,19298	82,45614	61,84211	62,2807
G2 D1	115,9722	106,25	53,47222	70,13889
G2 D28	115,0685	99,08676	82,19178	111,4155
G2 D33	108,1871	115,7895	88,88889	82,45614
G3 D1	74,02597	100,8658	93,50649	93,07359
G3 D28	78,86179	55,28455	76,42276	70,73171
G3 D33	74,02597	100,8658	93,50649	93,07359
G4 D1	76,37681	94,92754	83,91304	83,91304
G4 D28	75,68306	84,42623	66,39344	51,36612
G4 D33	109,0909	114,1414	67,67677	89,89899

*tabela com dados preliminares

Apesar de não ter sido identificada diferença significativa entre os tratamentos, numericamente a porcentagem de redução de UFCs foi mais evidente nos tratamentos G3 e G4 após 28 dias de administração de β -glucana. O ensaio de fagocitose avalia a quantidade de bactérias fagocitadas e mortas pelas células do sistema imune. A ausência de diferença entre os tratamentos pode ser explicada pela elevada variabilidade de resultados observados no ensaio de atividade bactericida por fagocitose (Green et al., 2007).

Por outro lado, os valores de porcentagem de redução de UFCs mais evidente (numericamente) nos tratamentos G3 e G4 após 28 dias de administração de β -glucana estão alinhados com relatos de literatura que evidenciam que a β -glucana de *Saccharomyces cerevisiae* é capaz de induzir a imunidade treinada em monócitos e macrófagos de modelos murinos e humanos (Bekkering et al., 2016; García-Valtanen et al., 2017).

Para complementar as informações, mais estudos estão em condução para examinar os mecanismos de indução da imunidade treinada em monócitos de bovinos. Dessa forma, teste de expressão gênica, quantificação celular, bioquímica sanguínea, imunohistoquímica, produção de interleucinas e análises dos resultados dos ensaios clínicos ainda serão realizados para compor os resultados finais do experimento.

Conclusões

Apesar de não terem sido encontradas diferenças estatísticas entre os tratamentos com diferentes concentrações de β -glucana, os valores numéricos do ensaio de fagocitose sinalizam para resultados que podem ser promissores quanto ao uso da β -glucana nas

concentrações de 60 mg/kg/dia e 84 mg/kg/dia. Contudo, conclusões definitivas somente serão obtidas após as análises conjuntas dos resultados de expressão gênica, quantificação celular, bioquímica, imunohistoquímica, produção de interleucinas e análises dos resultados dos ensaios clínicos.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fapemig e Biorigin.

Referências

- BEKKERING, S.; BLOK, B. A.; JOOSTEN, L. A.; RIKSEN, N. P.; VAN CREVEL, R.; NETEA, M. G. In vitro experimental model of trained innate immunity in human primary monocytes. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 23, n. 12, p. 926-933, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1128/cvi.00349-16>.
- CHAGAS, A. C. de S. (ed.). **Diarréia em bezerros leiteiros lactantes: a doença e o manejo em diferentes unidades da Embrapa**. São Carlos, SP: Embrapa Pecuária Sudeste, 2015. 43 p. (Embrapa Pecuária Sudeste. Documentos, 120).
- DORELLA, F. A.; PACHECO, L. G. C.; SEYFFERT, N.; PORTELA, R. W.; MEYER, R.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V. Antigens of *Corynebacterium pseudotuberculosis* and prospects for vaccine development. **Expert Review of Vaccines**, v. 8, n. 2, p. 205-213, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1586/14760584.8.2.205>.
- FEITOSA, A. L. V. L.; TEIXEIRA, M. F. S.; PINHEIRO, R. R.; PINHEIRO, A. A.; AZEVEDO, D. A. A.; ALVES, S. M. Primeiro isolamento de lentivírus de pequenos ruminantes em caprino naturalmente infectado em rebanho do Rio Grande do Norte, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 4, p. 501-505, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657v78p5012011>.
- FINCK, D.; RIBEIRO, F.; BURDICK, N.; PARR, S.; CARROLL, J.; YOUNG, T.; BERNHARD, B.; CORLEY, J.; ESTEFAN, A.; RATHMANN, R.; JOHNSON, B. Yeast supplementation alters the performance and health status of receiving cattle. **The Professional Animal Scientist**, v. 30, n. 3, p. 333-341, 2014. DOI: [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30125-X](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30125-X).
- GARCÍA-VALTANEN, P.; GUZMAN-GENUINO, R. M.; WILLIAMS, D. L.; HAYBALL, J. D.; DIENER, K. R. Evaluation of trained immunity by β -1, 3 (d)-glucan on murine monocytes in vitro and duration of response in vivo. **Immunology and Cell Biology**, v. 95, p. 601-610, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/icb.2017.13>.
- GIMENES, G.; DIAS, E.; DIAS, S.; BASTOS, G.; GERBASI, A.; ALMADA, A.; BORGES, J.; GONÇALVES, D.; SIMÕES, J.; PIAU JÚNIOR, R. Eficácia da suplementação oral com 1,3-1,6 betaglucano proveniente de *Saccharomyces cerevisiae* no controle da mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, n. 4, p. 1441-1448, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-10556>.
- GREEN, J. N.; WINTERBOURN, C. C.; HAMPTON, M. B. Analysis of neutrophil bactericidal activity. In: QUINN, M. T.; DELEO, F. R.; BOKOCH, G. M. (ed.). **Neutrophil methods and protocols**. Totowa: Humana Press, 2007. p. 319-322. (Methods in Molecular Biology, v. 412). DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-59745-467-4_21.
- VALDIVIA, J.; REAL, F.; ACOSTA, F.; ACOSTA, B.; DÉNIZ, S.; RAMOS-VIVAS, J.; ELAAMRI, F.; PADILLA, D. Interaction of *Corynebacterium pseudotuberculosis* with ovine cells in vitro. **Veterinary Pathology**, v. 50, n. 2, p. 318-323, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1177/0300985812452579>.
- YUAN, K.; MENDONÇA, L.; HULBERT, L.; MAMEDOVA, L.; MUCKEY, M.; SHEN, Y.; ELROD, C.; BRADFORD, B. Yeast product supplementation modulated humoral and mucosal immunity and uterine inflammatory signals in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 5, p. 3236-3246, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8469>.

Frequência de haplótipos letais e alelos ligados às doenças genéticas na raça Jersey no Brasil

Lidiane Loeffler Lima^(1,2), Raíssa Cury Ferreira^(3,4), Ariany Lacerda Nogueira^(4,5), Rafaella Lima Oliveira Magalhães^(4,6), Clarissa Vidal Carvalho^(4,6), Nicole Tafnes de Brito Silva Honório^(4,6), Daniele Ribeiro de Lima Reis Faza⁽⁷⁾, Robert Domingues⁽⁸⁾, Marco Antonio Machado^(9,10), João Cláudio do Carmo Panetto^(9,10), Marcos Vinicius Gualberto Barbosa da Silva^(9,10), Marta Fonseca Martins^(9,10,11)

⁽¹⁾Bolsista IC CNPq/ INCT de Ciência Animal, ⁽²⁾Graduanda em Biomedicina - Centro Universitário do Sudeste Mineiro-UNICSUM. E-mail: lidianeloefflerlima@gmail.com, ⁽³⁾Graduanda em Biomedicina - Universidade Presidente Antônio Carlos- UNIPAC, Juiz de Fora, MG. E-mail: raissacuryferreira08@gmail.com, ⁽⁴⁾Bolsista Pibic CNPq/ Embrapa, ⁽⁵⁾Graduanda em Medicina Veterinária - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. E-mail: ariany.lacerda@icb.ufjf.br, ⁽⁶⁾Graduanda em Ciências Biológicas - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. E-mail: rafaella.magalhaes@estudante.ufjf.br; clarissavidal4@gmail.com; nicole.honorio@estudante.ufjf.br, ⁽⁷⁾Analista da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. E-mail: danielle.reis@embrapa.br, ⁽⁸⁾Analista Embrapa Pecuária Sul. E-mail: robert.domingues@embrapa.br, ⁽⁹⁾Pesquisador(a) da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. E-mail: marco.machado@embrapa.br; joao.panetto@embrapa.br; marcos.vb.silva@embrapa.br; marta.martins@embrapa.br, ⁽¹⁰⁾Bolsista de Produtividade do CNPq, ⁽¹¹⁾Orientadora

Resumo- A raça Jersey é de grande importância na pecuária leiteira do Brasil, sendo suas principais características a maior produção de leite por unidade de peso corporal e altos teores de gordura e proteína no leite. Desta forma, a seleção intensa e correta é de grande importância para os criadores, objetivando aumentar os ganhos genéticos para as características de importância econômica e a produtividade por área. Portanto, é relevante conhecer o perfil genético dos touros e das vacas, evitando a disseminação de características hereditárias desfavoráveis, tais como haplótipos letais e alelos ligados à morte embrionária como JNS, DUMPS e BLAD. Desse modo, o presente estudo objetivou identificar a frequência de alelos desfavoráveis para JNS, DUMPS e BLAD de vacas genotipadas no âmbito do Programa de Melhoramento da Raça Jersey.

Termos para indexação: genotipagem; haplótipos.

Genotypic frequency of disease haplotypes in Jersey cows

Abstract- The Jersey breed is of great importance in dairy farming in Brazil, its main characteristics being the highest milk production per unit of body weight and high levels of fat and protein in the milk. In this way, the intense and correct selection is of great importance for the creators, aiming to increase the genetic gains for the characteristics of economic importance and the productivity per area. Therefore, it is relevant to know the genetic profile

of bulls and cows, avoiding the dissemination of unfavorable hereditary characteristics, such as lethal haplotypes and alleles linked to embryonic death such as JNS, DUMPS and BLAD. Thus, the present study aimed to identify the frequency of unfavorable alleles for JNS, DUMPS and BLAD in cows genotyped under the Jersey Breed Improvement Program.

Index terms: genotyping; haplotypes.

Introdução

A raça Jersey ingressou no Brasil em 1896, sendo o primeiro lote proveniente da granja Windsor, pertencente à rainha Vitória do Reino Unido. Porém, somente na década de 1930 a raça foi oficializada pelo Ministério da Agricultura do Brasil, culminando na criação da Associação de Criadores de Gado Jersey do Brasil - ACGJB (Gonsales, 2021).

Atualmente, a raça Jersey é uma das principais raças leiteiras do país. Dentre as características intrínsecas a ela, podem ser citadas a produção de leite por unidade de peso corporal maior do que em qualquer outra raça e os maiores percentuais de gordura e proteína no leite, em relação às demais. Em razão destas características, a raça Jersey tem sido valorizada no mercado de laticínios (Gonsales, 2021).

Desse modo, é de grande importância para os criadores efetuar a seleção dos animais com maior potencial para estas e outras características de importância econômica, visando aumentar a produtividade e a lucratividade do rebanho. Desta forma, é de grande relevância conhecer o perfil genético dos touros e vacas por meio do uso da genômica. A identificação de animais portadores de haplótipos e alelos de doenças ligadas à morte embrionária precoce nos primeiros 60 dias de gestação (JH1, JH2 e DUMPS), deficiência imunológica (BLAD) e neuropatia (JNS) torna possível o uso de acasalamentos dirigidos para redução de suas frequências na população (Al-Khudhair et al., 2022; Silva et al., 2023).

As doenças BLAD e DUMPS são autossômicas recessivas e acometem diferentes raças taurinas, sendo ocasionadas por mutações do tipo substituição, que resultam no comprometimento do sistema imunológico e na morte embrionária precoce, respectivamente. O haplótipo JNS aflige apenas a raça Jersey e é caracterizado pela incapacidade dos bezerros afetados de ficar em pé sobre os membros anteriores abertos, pois estes exibem rigidez extensora significativa. A ocorrência de portadores de JNS tem aumentado rapidamente em decorrência do uso intenso de alguns touros portadores (Paiva et al., 2013; Al-Khudhair et al., 2022).

Portanto, é essencial valer-se da genotipagem na escolha dos reprodutores, para que alelos letais não sejam disseminados na população, acarretando prejuízos econômicos. Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo identificar a frequência dos animais portadores das doenças BLAD, DUMPS e JNS. Os resultados que a seguir são expostos vão ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, contribuindo para o alcance dos seguintes objetivos específicos: ODS 2 - Erradicação da fome: acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável; ODS 8 - Empregos dignos e crescimento econômico: promover o crescimento econômico sustentado, inclusivo e sustentável, emprego pleno e produtivo, e trabalho decente para todos.

Material e métodos

Os dados genotípicos, doenças (BLAD e DUMPS) e o haplótipos JNS foram obtidos por meio de informações disponibilizadas pela ACGJB. Essas informações eram provenientes de três empresas de genotipagem (Neogen, STgenetics e Zoetis).

Em seguida, foi calculada a frequência alélica, genotípica observada e esperada para cada loci, com as respectivas fórmulas:

1) Frequência alélica

$$F(X) = n^{\circ} \text{ de alelos } X / n^{\circ} \text{ total de alelos}$$

2) Frequência genotípica observada

$$F(XX) = n^{\circ} \text{ de genótipos } XX / n^{\circ} \text{ total de indivíduos da população}$$

3) Frequência genotípica estimada

$$F(XX) = p^2 \quad F(XY) = 2pq \quad F(YY) = q^2$$

Por fim, foi verificado se a população analisada estava em equilíbrio por meio da fórmula $p^2+2pq+q^2=1$ e o resultado comprovado pelo teste de qui-quadrado. O teste de qui-quadrado foi determinado pela fórmula $\chi^2 = \sum(O-E)^2 / E$, em que O seria a frequência genotípica observada e E a esperada.

Resultados e discussão

Com base nos cálculos obtidos, a frequência genotípica observada dos portadores para o haplótipo JNS foi de 7%. Já o resultado do teste de qui-quadrado foi $\leq 3,84$, o que comprova que a população em questão se encontra em equilíbrio. Ao compararmos a frequência genotípica do haplótipo JNS obtido nesse estudo com resultados obtidos em outros países, observamos que o valor encontrado no Brasil é similar àqueles encontrados no Canadá e menos expressivo em relação aos valores observados nos EUA, uma vez que a frequência do haplótipo JNS no Canadá corresponde a 7% (Doormaal, 2021) e nos EUA a 8,2% (Al-Khudhair et al., 2022).

Em relação às doenças, BLAD e DUMPS, não houve animais portadores dentre aqueles genotipados. O número de animais, frequências alélicas, genotípicas observadas e estimadas obtidas neste estudo encontram-se nas tabelas a seguir. Os portadores foram identificados pelo número 1 e os não portadores pelo número 0.

Tabela 1. Número de animais, frequência alélica e genotípica observada para os loci analisados em bovinos da raça Jersey.

	Número de animais		
	JNS	BLAD	DUMPS
01	82	0	0
Total	1100	863	863
Total	1182	863	863
Frequência alélica			
1	0,0347	0	0
0	0,9653	1	1
Frequência Genotípica Observada			
01	0,0694	0	0
00	0,9306	1	1

Tabela 2. Frequência genotípica estimada e X² para os loci analisados em bovinos da raça Jersey.

	Frequência Genotípica Estimada		
	JNS	BLAD	DUMPS
01	0,0670	0	0
00	0,9318	1	1
11	0,0012	0	0
X ²			
0,0013 ^{ns}	0 ^{ns}	0 ^{ns}	0

ns= não significativo

Conclusões

Em virtude dos valores obtidos neste estudo, infere-se que a população genotipada se encontra em equilíbrio para os loci analisados. Porém, a frequência do alelo desfavorável do haplótipo JNS deve ser monitorada ao longo do tempo, com o intuito de evitar seu aumento, que seria prejudicial à raça.

Agradecimentos

À Fapemig (Processo APQ-02750-23), ao CNPq, à CAPES e ao INCT-CA/Brasil pelo suporte financeiro e à Embrapa Gado de Leite e à ACGJB pelo fornecimento dos dados necessários à realização deste estudo.

Referências

AL-KHUDHAIR, A.; NULL, D. J.; COLE, J. B.; WOLFE, C. W.; STEFFEN, D. J.; VANRADEN, P. M. Inheritance of a mutation causing neuropathy with splayed forelimbs in Jersey cattle. *Journal of Dairy Science*, v. 105, n. 2, p. 1338-1345, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20600>.

DOORMAAL, B. V. **Update on haplotypes including JNS for Jerseys**. Guelph: Lactanet, 2021. Disponível em: <https://www.cdn.ca/document.php?id=557>. Acesso em: 8 jul. 2023.

GONSALES, S. A. Gado Jersey: história, características e produção da raça. *MilkPoint*, 1 jul. 2021. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/artigos/producao-de-leite/gado-jersey-historia-caracteristicas-e-producao-da-raca-225762/>. Acesso em: 8 jul. 2023.

PAIVA, D. S.; FONSECA, I.; PINTO, I. S. B.; IANELLA, P.; CAMPOS, T. A.; CAETANO, A. R.; PAIVA, S. R.; SILVA, M. V. G. B.; MARTINS, M. F. Incidence of bovine leukocyte adhesion deficiency, complex vertebral malformation, and

deficiency of uridine-5-monophosphate synthase carriers in brazilian girolando cattle. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 3, p. 3186-3192, 2013.
DOI: <https://doi.org/10.4238/2013.august.29.2>.

SILVA, M. V. G. B.; MARTINS, M. F.; SOUZA, P. H. de; PANETTO, J. C. do C.; MACHADO, M. A.; SLOTA, V. M. M.; PEDROSA, V. B.; VERNEQUE, R. da S. **Programa de Melhoramento Genético da Raça Jersey - 1º Sumário de Avaliação - Associação de Criadores de Gado Jersey do Brasil - Embrapa - abril 2023**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2023. 135 p. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 272). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1152953/1/Programa-de-Melhoramento-Genetico-da-Raca-Jersey-1-Sumario-de-Avaliacao.pdf> Acesso em: 8 jul. 2023.

Frequências alélica e genotípica para a característica Mocho e Beta Caseína na raça Jersey

Raíssa Cury Ferreira^(1,2), Lidiane Loeffler Lima^(3,4), Ariany Lacerda Nogueira^(2,5), Rafaella Lima Oliveira Magalhães^{2,6}, Larissa Vidal Carvalho^(2,6), Nicole Tafnes de Brito Silva Honório^(2,6), Daniele Ribeiro de Lima Reis Faza⁽⁷⁾, Robert Domingues⁽⁸⁾, Marco Antonio Machado^(9,10), João Cláudio do Carmo Panetto^(9,10), Marcos Vinicius Gualberto Barbosa da Silva^(9,10), Marta Fonseca Martins^(9,10, 11)

⁽¹⁾Graduanda em Biomedicina - Universidade Presidente Antônio Carlos - UNIPAC, Juiz de Fora, MG. E-mail: raissacuryferreira08@gmail.com, ⁽²⁾Bolsista Pibic CNPq/ Embrapa, ⁽³⁾Bolsista IC CNPq/ INCT de Ciência Animal, ⁽⁴⁾Graduanda em Biomedicina - Centro Universitário do Sudeste Mineiro- UNICSUM. E-mail: lidianeloefflerlima@gmail.com, ⁽⁵⁾Graduanda em Medicina Veterinária - UFJF, Juiz de Fora, MG. E-mail: ariany.lacerda@icb.ufjf.br, ⁽⁶⁾Graduanda em Ciências Biológicas - Universidade Federal de Juiz de Fora. E-mail: rafaella.magalhaes@estudante.ufjf.br; clarissavidal4@gmail.com; nicole.honorio@estudante.ufjf.br, ⁽⁷⁾Analista da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. E-mail: daniele.reis@embrapa.com, ⁽⁸⁾Analista Embrapa Pecuária Sul. E-mail: robert.domingues@embrapa.br, ⁽⁹⁾Pesquisador(a) da Embrapa Gado de Leite: marco.machado@embrapa.br; joao.panetto@embrapa.br; marcos.vb.silva@embrapa.br, marta.martins@embrapa.br, ⁽¹⁰⁾Bolsista de Produtividade do CNPq, ⁽¹¹⁾Orientadora

Resumo- A raça Jersey destaca-se por produzir leite com maior quantidade de sólidos gordurosos e não gordurosos, quando comparado com aquele produzido por outras raças leiteiras, tornando-o mais saboroso e nutritivo. É importante genotipar animais da raça Jersey para selecionar características positivas como a Mocho, em que a ausência de chifres diminui a possibilidade de lesões, e a Beta-Caseína A2, a fim de otimizar a produção leiteira. Portanto, o objetivo deste trabalho foi identificar a frequência dos alelos para as características Mocho e Beta-Caseína A2, utilizando chips comerciais. Assim, foram calculadas as frequências alélica e genotípica para estimar se os loci estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg. A frequência do alelo para mocho foi 0,86% e para o alelo A2 foi 78,31%. Os *loci* estão em equilíbrio dentro da população analisada.

Termos para indexação: Beta Caseína, Genética molecular e de microrganismos, Jersey.

Allelic and genotypic frequencies for Polled trait and Beta Casein in the Jersey breed

Abstract- The Jersey breed stands out for having a higher amount of fatty and non-greasy solids, when compared to the milk produced by other dairy breeds, making it tastier and more nutritious. It is important to genotype Jersey animals to select positive traits such as Mocho, in which the absence of horns reduces the possibility of injuries, and Beta-Casein A2, in order to optimize milk production. Therefore, the objective of this work was to identify the frequency of the alleles for the Polled and Beta-Casein traits, using commercial chips. Thus, the allele and genotype frequencies were calculated to estimate whether the loci were in Hardy-Weinberg equilibrium. The frequency of the allele for owl was 0.86% and for the A2 allele it was 78.31%. The loci are in balance within the analyzed population.

Index terms: Beta Casein, Molecular and microorganism genetics, Jersey.

Introdução

A raça Jersey originou-se em uma ilha próxima ao canal da mancha denominada Jersey. Dentre suas principais características ressalta-se tolerância ao calor e elevado índice de conversão alimentar e resistência. Além disso, o leite Jersey contém maior quantidade de gordura e sólidos não gordurosos (proteína, lactose, vitaminas e minerais), quando comparado com aquele produzido pelas outras raças leiteiras, tornando-o mais saboroso e nutritivo (Associação de Criadores de Gado Jersey do Rio Grande do Sul, 2023). Assim, é essencial que os produtores se atentem na escolha mais adequada dos animais reprodutores que serão utilizados em seus rebanhos, visando selecionar as melhores características da raça, como a variante A2 da proteína do leite Beta-Caseína.

A Beta-Caseína possui 13 variantes genéticas, sendo as mais comuns, as variantes A1 e A2. A variante genética A1 provém de uma mutação de ponto na posição 67 no alelo A2 da Beta-Caseína bovina. No alelo A2 a posição 67 é ocupada pelo aminoácido prolina enquanto no alelo A1 é ocupada pela histidina. Mediante isso, algumas pesquisas têm relacionado essa variante ao desenvolvimento de doenças crônicas em humanos predispostos, como por exemplo Diabetes Mellitus, problemas de digestibilidade e doenças cardiovasculares. Por isso é de extrema importância genotipar os animais visando selecionar aqueles com alelo A2 (Brooke-Taylor et al., 2017; Asledottir et al. 2019).

Ademais, outra característica que merece destaque ao selecionar os animais reprodutores é o Mocho, que possui herança autossômica dominante no *locus Polled* (BTA1) e é caracterizada pela ausência de chifres. O confinamento do rebanho durante o processo de ordenha e possíveis lesões desencadeadas pelos chifres, que podem resultar em infecções (Xavier, 2019), justificam a seleção de reprodutores mochos.

Assim sendo, o objetivo do presente trabalho foi estabelecer as frequências genóticas e alélicas dos genes *Pooled* e Beta-Caseína e testar se os loci estão em equilíbrio dentro da população analisada. Os resultados que a seguir são expostos vão ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, contribuindo para o alcance dos seguintes objetivos específicos: ODS 2 - Erradicação da fome: acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável; ODS 3 - Saúde de qualidade: Assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todos, em todas as idades ODS 8 - Empregos dignos e crescimento econômico: promover o crescimento econômico sustentado, inclusivo e sustentável, emprego pleno e produtivo, e trabalho decente para todos.

Material e métodos

Foram genotipados animais da raça Jersey, sendo 922 animais para a característica Mocho e 1190 para Beta Caseína, em chips comerciais em empresas prestadoras de serviço (ST Genetics: Genetic Visions ST; Zoetis: Clarifide® Plus; Neogen: Igenity-Essential e Igenity-Prime).

Após a padronização das informações recebidas, contendo os loci dos animais, foram calculadas as frequências alélica e genotípica. Para o cálculo da frequência alélica, foi dividido o número de cada alelo específico pelo número total de alelos, e para a frequência genotípica observada, foi dividido o número de cada genótipo pelo número total de indivíduos

da população genotipada. Ao fim desse processo, os resultados obtidos foram usados para estimar o equilíbrio de Hardy-Weinberg usando o teste de qui-quadrado (Mayo, 2008).

Resultados e discussão

De todos os 922 animais genotipados para a característica Mocho, não foram observados animais Homozigotos Dominantes para Mocho (PP), e de acordo com a frequência genotípica observada, como mostra na Tabela 1, a frequência de HH mostra-se prevalente com 98% dos animais homozigotos para o gene *Horned*. Este não é um bom resultado, uma vez que o mocho é uma característica desejável e a frequência de animais com chifres é alta.

Nos 1.190 animais testados para a proteína Beta-Caseína, percebe-se haver uma frequência maior do alelo A2, levando em consideração o resultado da frequência genotípica observada, em que o genótipo A2/A2 representa 61% dos animais, A1/A2 representa 34% e 5% dos animais genotipados são A1/A1. Este quadro é comum também em outros países como no Canadá, que em 2016, por um estudo feito pela Canadian Dairy Network, obteve 65% dos animais genotipados para o gene A2/A2, 32% para A1/A2 e apenas 3% para A1/A1 (Jersey Canada, 2016). O leite A2, além de proporcionar benefícios à saúde, é comercializado como sendo de qualidade superior e tem sido escolhido por alguns consumidores (Jersey Canada, 2016; Gaudry et al., 2019).

Pelo cálculo do Equilíbrio de Hardy-Weinberg, tanto o Mocho quanto a Beta-Caseína, o resultado obtido foi Nulo ou Não Rejeitado.

Tabela 1. Quantidade de animais analisados, frequências alélica e genotípica e resultado do χ^2 para a característica mocho em animais da raça Jersey.

Quantidade de animais			Frequência alélica		Frequência genotípica observada		Frequência genotípica estimada		E H-W
HP	HH	Total	H	P	HP	HH	HP	HH	χ^2
16	906	922	0,9913	0,0086	0,0173	0,9826	0,0172	0,9827	1,3. 10 ⁻⁶ ns

HH animal homozigoto com chifres; HP animal heterozigoto mocho; PP animal homozigoto mocho. ns = não significativo. EWH = Equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Tabela 2. Quantidade de animais analisados, frequências alélica e genotípica e resultado do χ^2 para a proteína Beta-Caseína em animais da raça Jersey.

Quantidade de animais				Frequência alélica		Frequência genotípica observada			Frequência genotípica estimada			E H-W
A1/A1	A1/A2	A2/A2	Total	A1	A2	A1/A1	A1/A2	A2/A2	A1/A1	A1/A2	A2/A2	χ^2
56	404	730	1190	0,2168	0,7831	0,0470	0,3394	0,6134	0,0470	0,3396	0,6133	9,9.10 ⁻⁸ ns

A1/A1 animal homozigoto do leite A1; A1/A2 animal heterozigoto; A2/A2 animal homozigoto do leite A2. ns = não significativo. EWH = Equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Conclusões

Diante dos valores apresentados, ambos os *loci* estão em equilíbrio dentro da população analisada.

Agradecimentos

À Fapemig (Processo APQ-02750-23), ao CNPq, à CAPES e ao INCT-CA/Brasil pelo suporte financeiro e à Embrapa Gado de Leite e à ACGJB pelo fornecimento dos dados necessários à realização deste estudo.

Referências

ASLEDOTTIR, T.; PICARIELLO, G.; MAMONE, G.; FERRANTI, P.; RØSETH, A.; DEVOLD, T. G.; VEGARUD, G. E. Degradation of β -casomorphin-7 through in vitro gastrointestinal and jejunal brush border membrane digestion. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 10, p. 8622-8629, 2019. DOI: <http://doi.org/10.3168/jds.2019-16771>.

ASSOCIAÇÃO DE CRIADORES DE GADO JERSEY DO RIO GRANDE DO SUL. **Por que criar Jersey?** Disponível em: <http://www.jerseys.com.br/Pagina/Index/PORQUECRIARJERSEY>. Acesso em: 20 ago. 2023.

BROOKE-TAYLOR, S.; DWYER, K.; WOODFORD, K.; KOST, N. Systematic review of the gastrointestinal effects of A1 compared with A2 β -Casein. **Advances Nutrition**, v. 8, n. 5, p. 739-748, 2017. DOI: <http://doi.org/10.3945/an.116.013953>.

GAUDRY, D. K. de; LOHNER, S.; SCHMUCKER, C.; KAPP, P.; MOTSCHALL, E.; HÖRRLEIN, S.; ROGER, C.; MEERPOHL, J. J. Milk A1 β -casein and health-related outcomes in humans: a systematic review. **Nutrition Reviews**, v. 77, n. 5, p. 278-306, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuy063>.

JERSEY CANADA. **The Jersey advantage**. Guelph, 2016. Disponível em: <https://jerseycanada.com/wp-content/uploads/2018/04/2016-jersey-advantage-eng-for-web.pdf>. Acesso em: 23 ago. 2023.

MAYO, O. A century of hardy-weinberg equilibrium. **Twin Research and Human Genetics**, v. 11, n. 3, p. 249-256, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1375/twin.11.3.249>.

ŞAHİN, Ö.; BOZTEPE, S. Assessment of A1 and A2 variants in the CNS2 gene of some cattle breeds by using ACRS-PCR method. **Animal Biotechnology**, v. 34, n. 4, p. 1505-1513, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1080/10495398.2022.2036176>.

XAVIER, M. **O grande potencial do gado Jersey mocho**. Curitiba: Canal do Leite, 2019. Disponível em: <https://canaldoleite.com/colunas/marcelo-de-paula-xavier/o-gado-jersey-mocho/>. Acesso em: 11 jul. 2023.

Identificação de portadores das síndromes *Brachyspina* e Deficiência do Fator XI em touros da raça Girolando

Ariany Lacerda Nogueira^(1,2), Raissa Cury Ferreira^(1,3), Lidiane Loeffler Lima^(1,4), Rafaella Lima Oliveira de Magalhães^(1,5), Clarissa Vidal de Carvalho^(1,5), Nicole Tafnes de Brito Silva Honório^(1,5), Hyago Passe Pereira⁽⁷⁾, Robert Domingues⁽⁷⁾, Daniele Ribeiro de Lima Reis Faza⁽⁸⁾, João Cláudio do Carmo Panetto⁽⁹⁾, Marcos Vinícius Gualberto Barbosa da Silva⁽⁹⁾, Marta Fonseca Martins⁽⁹⁾, Marco Antonio Machado^(9,10)

⁽¹⁾Bolsista Pibic CNPq, ⁽²⁾Graduanda em Medicina Veterinária - UFJF, Juiz de Fora, MG. E-mail: ariany.lacerda@icb.ufjf.br, ⁽³⁾Graduanda em Biomedicina - Universidade Presidente Antônio Carlos/UNIPAC, Juiz de Fora, MG. E-mail: raissacuryferreira08@gmail.com, ⁽⁴⁾Graduanda em Biomedicina - Centro Universitário do Sudeste Mineiro/UNICSUM, Juiz de Fora, MG. E-mail: lidianeloefflerlima@gmail.com, ⁽⁵⁾Graduanda em Ciências Biológicas - UFJF, Juiz de Fora, MG. E-mail: rafaella.magalhaes1234@gmail.com, clarissavidal4@gmail.com, nicole.honorio@estudante.ufjf.br, ⁽⁶⁾Doutorando em Ciências Biológicas (Imunologia e DIP / Genética e Biotecnologia) - UFJF, Juiz de Fora, MG. E-mail: hyago9295@gmail.com, ⁽⁷⁾Analista, Embrapa Pecuária Sul. E-mail: robert.domingues@embrapa.br ⁽⁸⁾Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. E-mail: danielle.reis@embrapa.br, ⁽⁹⁾Pesquisador (a), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. Email: marco.machado@embrapa.br, ⁽¹⁰⁾Orientador

Resumo- A raça Girolando é a que mais cresce no Brasil em produção de leite e venda de sêmen. Desta forma, torna-se necessária a identificação de touros portadores de anomalias, como a síndrome da *Brachyspina* e a deficiência do Fator XI, a fim de evitar disseminação de doenças e perdas econômicas. A *Brachyspina* é uma síndrome genética recessiva letal identificada, primeiramente, em animais da raça Holandesa que comumente causa aborto precoce e, em casos raros, bezerros natimortos. A deficiência do fator XI caracteriza-se por ser uma doença hereditária autossômica recessiva, que compromete a coagulação sanguínea. Este estudo objetivou genotipar 698 touros da raça Girolando para ambas as doenças, dos quais 34 foram portadores do gene da *Brachyspina*, com frequência alélica e genotípica de 2,4% e 4,8% respectivamente. Nenhum touro foi portador do alelo mutante para a deficiência do fator XI.

Termos para indexação: Girolando, genotipagem, mutações.

Identification of *Brachyspina* syndrome and Factor XI deficiency carriers in Girolando bulls

Abstract- The Girolando breed is the fastest one growing in Brazil in terms of milk production and bull semen commercialization. Therefore, it is necessary to identify bulls with anomalies such as *Brachyspina* syndrome and Factor XI deficiency, in order to avoid the spread of diseases and economic losses. *Brachyspina* is a lethal recessive genetic syndrome first identified in Holstein animals, which commonly causes early abortion and in rare cases stillborn calves. Factor XI deficiency is characterized as an autosomal recessive hereditary disease that compromises blood clotting. This study aimed to genotype 698 Girolando bulls for both diseases, of which 34 carried the *Brachyspina* gene, with an allelic and genotypic frequency of 2.4% and 4.8% respectively. No bulls carried the mutant allele for factor XI deficiency.

Index terms: Girolando, genotyping, mutations.

Introdução

A raça Girolando foi criada em 1978 por meio do programa PROCRUZA, implantado pelo Ministério da Agricultura, visando a obtenção de uma raça bovina que fosse adaptada ao clima tropical, ou seja, com a rusticidade que a raça zebuína Gir oferece e com a alta produção de leite oferecida pela raça Holandesa (Associação Brasileira dos Criadores de Girolando, 2023). No que tange à produção de sêmen pelos touros e à produção de leite pelas vacas, a raça Girolando é a que mais cresce no Brasil, sendo que 80% do leite produzido no país é proveniente desta raça (Silva et al., 2022).

A Brachyspina é uma anormalidade genética letal descoberta em animais da raça Holandesa. Seu mecanismo genético consiste na deleção de 3.329 pares de bases no gene *Fanconi Anemia Complementation Group 1* (FANCI) no cromossomo bovino 21, responsável pela codificação de uma proteína com papel fundamental nos processos de reparação do DNA (Rodriguez et al., 2021). Esta deleção compreende os éxons 25 a 27 (total de 37 éxons), culminando em um códon de parada prematuro localizado no éxon 28 (Fang et al., 2013; Li et al., 2016). É uma doença autossômica homozigota recessiva e seu primeiro caso descrito foi em 2006, na Dinamarca (Agerholm et al., 2010). Esta síndrome é caracterizada pela ocorrência de abortos precoces e de bezerros natimortos após uma gestação normal ou ligeiramente prolongada (Fang et al., 2013). A maioria dos casos já reportados desta anomalia genética estão relacionados ao touro americano Sweet Haven Tradition, contudo um estudo canadense sugere um ancestral ainda mais remoto, o touro Round Oak Rag Apple Elevation (Agerholm et al., 2010; Charlier et al., 2012), reafirmando a problemática mundial desta doença.

A deficiência do Fator XI caracteriza-se por uma doença hereditária autossômica recessiva que acomete animais da raça Holandesa (Meydan et al., 2009). O Fator XI participa dos estágios iniciais da via intrínseca da cascata de coagulação, desta forma, os animais afetados apresentarão sinais clínicos relacionados com hemorragias e sangramentos intensos (Gentry; Black, 1980). Os animais heterozigotos para esta doença podem apresentar sinais clínicos diversos e diferentes graus de redução na atividade do Fator XI, podendo viver anos sem apresentar indícios da anomalia, enquanto os homozigotos recessivos apresentam uma clínica demarcada e são mais fáceis de identificar (Meydan et al., 2009). A mutação consiste na inserção de um fragmento de 76 pares de base no éxon 12 do cromossomo bovino 27 no gene FXI, o que resulta em um códon de parada precoce, impedindo a maturação da proteína (Marron et al., 2004).

Em 2022, a Embrapa Gado de Leite genotipou 774 touros da raça Gir, dos quais nenhum foi portador, e 60 da raça Holandesa, dos quais quatro foram portadores para o gene da Brachyspina, com frequência alélica e genotípica respectivamente de 3,33% e 6,66% (Nogueira et al., 2022). Estes mesmos animais foram genotipados também para a deficiência do Fator XI, dos quais nenhum foi positivo (Jens et al., 2022). O principal impacto dessas mutações está relacionado com a fertilidade e a saúde animal, gerando perdas econômicas significativas.

Verificamos a necessidade de genotipar touros Girolando e identificar os touros portadores, visto que um dos métodos mais eficientes para controlar essas doenças genéticas é o acasalamento seletivo e a triagem de touros jovens (Fang et al., 2013).

Dessa forma, o presente estudo objetivou genotipar 698 touros da raça Girolando para ambas as doenças, Brachyspina e deficiência do fator XI Assim, os resultados obtidos e expostos a seguir vão ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, nos seguintes objetivos específicos: ODS 2: “Acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável; ODS 8 - Empregos dignos e crescimento econômico: Promover o crescimento econômico sustentado, inclusivo e sustentável, emprego pleno e produtivo, e trabalho decente para todos; ODS 12: “Assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis”.

Material e métodos

Foram utilizados, ao todo, 698 touros da raça Girolando, incluindo aqueles integrantes do Programa de Melhoramento Genético do Girolando, que integram o Banco de DNA de Bovinos de Leite da Embrapa Gado de Leite.

Para a genotipagem de Brachyspina foi realizada a técnica de PCR *multiplex* sendo que as sequências 5' - 3' dos *primers* utilizados foram: Brachyspina F (GCTCAAGTAGTTAGTTGCTCCACTG), Brachyspina R (ATAAATAAATAAAGCAGGATGC TGAAA), MT F (TAAGTTAGAGATTGAGAGCC) e MT R (GATAAGGGTTACGAGAGGGA) (Li et al., 2016). Em 20 µL de reação, foram adicionados 80 ng de DNA, 2,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de dNTP, 0,6 µM de cada *primer*, sendo Brachyspina F e R para identificação do alelo recessivo e MT F e R para controle da reação (gene ATP8) e, por fim, tampão de PCR 1X e 1 U de GoTaq Polimerase (Promega, Fitchburg, EUA). As amostras foram termocicladas a uma temperatura de 94 °C por 10 minutos, seguida de 10 ciclos de 30 segundos de desnaturação a 95 °C, 30 segundos de ligação a 65 °C, sendo que a cada ciclo 1 °C foi diminuído e 30 segundos de extensão a 72 °C, seguidos de mais 25 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 segundos, ligação a 55 °C por 30 segundos e extensão a 72 °C por 30 segundos e uma extensão final de 72 °C por 7 minutos.

Já para a genotipagem da deficiência do Fator XI foi realizada a técnica de PCR usando os primers FXID F 5'-CCCCTGGCTAGGAATCGTT-3' e FXID R 5'-CAAGGCAATGTCATATCCAC-3' (Meydan et al., 2010). Foram adicionados 100 ng de DNA, 1,5 mM de MgCl₂, 0,4 mM de dNTP, 0,5 µM de cada *primer*, tampão de PCR 1X e 0,5 U de GoTaq Polimerase (Promega, Fitchburg, EUA). As amostras foram termocicladas a uma temperatura de 94 °C por 10 minutos, seguida de 35 ciclos de 30 segundos de desnaturação a 95 °C, 60 segundos de ligação a 55 °C e 30 segundos de extensão a 72 °C. A extensão final foi feita a 72 °C por 10 minutos.

Os produtos da reação de PCR de ambas as anomalias foram revelados por eletroforese em gel de agarose a 1,5% corado por 30 minutos em solução de brometo de etídio 0,3%. Foram aplicados 10 µL da PCR de cada amostra e 10 µL do DNA *ladder* de 100 pares de base (Promega, Madison, EUA). A corrida foi feita a 100 volts por 2 horas e 30 minutos.

Com relação à Brachyspina, o padrão de fragmentos esperados para animais normais são dois fragmentos sendo um de 3.738 e outro de 269 pb. Para portadores são esperados três fragmentos, sendo um de 3.738 pb, um de 409 pb e outro de 269 pb. Para animais homocigotos recessivos são esperados dois fragmentos, sendo um de 409 pb e outro de 269 pb. É importante ressaltar que o fragmento de 3.738 pb é de difícil amplificação e nem sempre é observado no gel, justificando a necessidade de um *primer* controle (MT)

para a confirmação do funcionamento da reação de PCR. Para a deficiência do Fator XI o padrão de fragmentos esperados para animais normais é um fragmento de 244 pb. Para portadores são esperados dois fragmentos, sendo um de 320 pb e outro de 244 pb. Para animais homozigotos recessivos espera-se apenas um fragmento de 320 pb.

Resultados e discussão

Dos 698 touros da raça Girolando genotipados, nenhum animal foi portador da deficiência do Fator XI, contudo 34 foram portadores do gene da Brachyspina (Figuras 1 e 2). As frequências alélicas e genotípicas encontradas foram, respectivamente, de 2,4% e 4,8%. A presença de portadores na raça Girolando pode ser explicada pelo fato de que a mutação geradora da síndrome da Brachyspina ocorreu no touro canadense da raça Holandesa Round Oak Rag Apple Elevation, cujo sêmen foi largamente utilizado nos programas de melhoramento genético ao redor do mundo (Fang et al., 2013), inclusive naqueles de touros da raça Girolando. Não foi encontrado na literatura outro estudo que estime as frequências alélica e genotípica dessas doenças, síndrome da Brachyspina e deficiência do Fator XI, na raça Girolando.

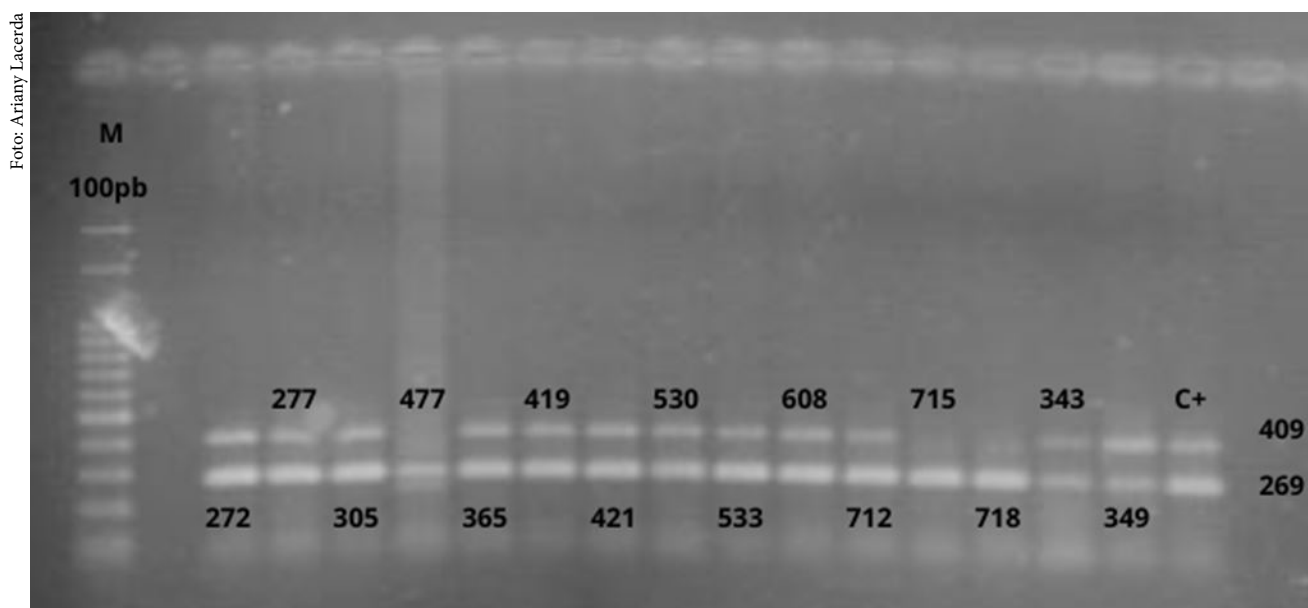


Figura 1. Foto de gel de agarose 1,5% mostrando os animais portadores para o gene da Brachyspina. Os touros GLTGH 272, 277, 305, 419, 421, 530, 533, 608, 712, 343 e 349 são portadores do gene da Brachyspina, apresentando os fragmentos de 269 e 409 pares de base, sendo que o último encontra-se presente apenas nos portadores. M: padrão DNA ladder de 100 pb.

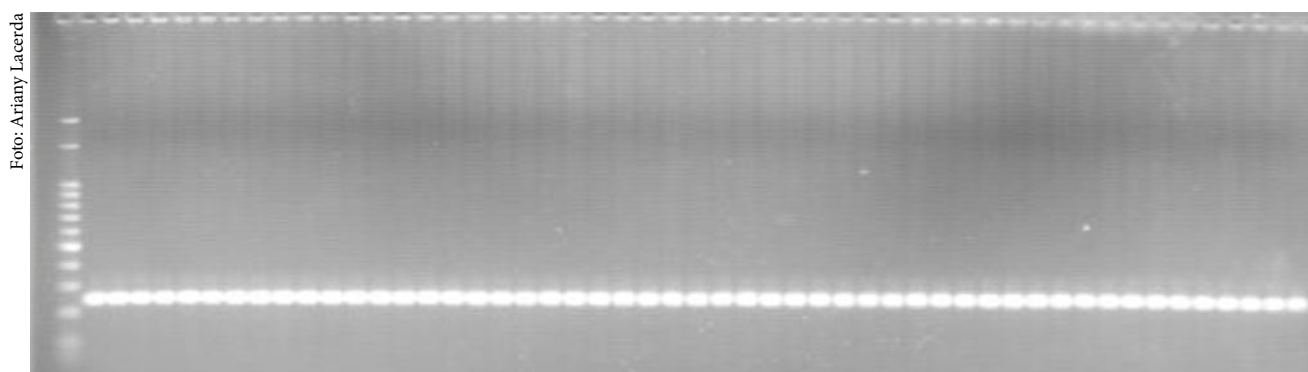


Figura 2. Foto de gel de agarose 1,5% mostrando o resultado da genotipagem para a deficiência do Fator XI. Nenhum animal genotipado foi portador da deficiência do Fator XI. O DNA ladder de 100 pb foi utilizado na extremidade esquerda.

Conclusões

As técnicas de PCR utilizadas foram eficientes para a genotipagem dos touros Girolando para a síndrome da Brachyspina e para a deficiência do Fator XI. A genotipagem dos touros é de extrema importância, para que a orientação dos cruzamentos possa ser feita de forma a eliminar aqueles portadores do gene da Brachyspina, visando diminuição e possível erradicação do alelo mutante nos rebanhos da raça Girolando no Brasil e no mundo.

Agradecimento

Ao ao CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil. Trabalho realizado com o apoio financeiro da Embrapa, integrante do projeto “Utilização de ferramentas genômicas e quantitativas para maximização dos ganhos genéticos nos programas de seleção em bovinos leiteiros - SEG 20.18.01.018.00.00”.

Referências

AGERHOLM, J. S.; DELAY, J.; HICKS, B.; FREDHOLM, M. First confirmed case of the bovine brachyspina syndrome in Canada. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 51, n. 12, p. 1349-1350, 2010.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE GIROLANDO. Uberaba, 2023. Disponível em: <https://www.girolando.com.br/girolando/sobre-a-raca>. Acesso em: 27 fev. 2023.

CHARLIER, C.; AGERHOLM, J. S.; COPPIETERS, W.; KARLSKOV-MORTENSEN, P.; LI, W.; DE JONG, G.; FASQUELLE, C.; KARIM, L.; CIRERA, S.; CAMBISANO, N.; AHARIZ, N.; MULLAART, M.; FREDHOLM, M. A deletion in the bovine FANCI gene compromises fertility by causing fetal death and brachyspina. **PLoS One**, v. 7, n. 8, e43085, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043085>.

FANG, L.; LI, Y.; ZHANG, Y.; SUN, D.; LIU, L.; ZHANG, Y.; ZHANG, S. Identification of brachyspina syndrome carriers in Chinese Holstein cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 25, n. 4, p. 508-510, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1177/1040638713488387>.

GENTRY, P. A.; BLACK, W. D. Prevalence and inheritance of factor XI (plasma thromboplastin antecedent) deficiency in cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 4, p. 616-620, 1980. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(80\)82980-8](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(80)82980-8).

JENS, S. M.; NOGUEIRA, A. L.; MAGALHÃES, R. L. O. de; FRACETTI, M. E. M.; PEREIRA, H. P.; DOMINGUES, R.; REIS, D. R. de L.; PANETTO, J. C. do C.; SILVA, M. V. G. B.; MACHADO, M. A.; MARTINS, M. F. Identificação de portadores da deficiência do Fator XI em touros das Raças Gir e Holandesa. In: WORKSHOP DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA GADO DE LEITE PIBIC/CNPQ, 26., 2022, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2022. p. 71-74.

LI, Y.; ZHAI, L.; FANG, L.; ZHANG, S.; LIU, L.; ZHU, Y.; XUE, J.; XIAOQUNG, L.; QUIAO, L.; SUN, D. A novel multiplex polymerase chain reaction method for the identification of brachyspina syndrome carriers in Chinese Holstein cattle. **Journal of Veterinary Science & Medical Diagnosis**, v. 5, n. 3, 2016. DOI: <https://doi.org/10.4172/2325-9590.1000200>.

MARRON, B. M.; ROBINSON, J. L.; GENTRY, P. A.; BEEVER, J. E. Identification of a mutation associated with factor XI deficiency in Holstein cattle. **Animal Genetics**, v. 35, n. 6, p. 454-456, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2004.01202.x>.

MEYDAN, H.; YILDIZ, M. A.; ÖZDİL, F.; GEDIK, Y.; ÖZBEYAZ, C. Identification of factor XI deficiency in Holstein cattle in Turkey. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 51, n. 1, article 5, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1186/1751-0147-51-5>.

MEYDAN, H.; YILDIZ, M. A.; AGERHOLM, J. S. Screening for bovine leukocyte adhesion deficiency, deficiency of uridine monophosphate synthase, complex vertebral malformation, bovine citrullinaemia, and factor XI deficiency in Holstein cows reared in Turkey. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 52, n. 1, article 56, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1186/1751-0147-52-56>.

NOGUEIRA, A. L.; MAGALHÃES, R. L. O. de; JENS, S. M.; FRACETTI, M. E. M.; PEREIRA, H. P.; DOMINGUES, R.; REIS, D. R. de L.; PANETTO, J. C. do C.; SILVA, M. V. G. B.; MARTINS, M. F.; MACHADO, M. A. Identificação de portadores da síndrome de Brachyspina em touros das raças Gir e Holandesa. In: WORKSHOP DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA GADO DE LEITE PIBIC/CNPQ, 26., 2022, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2022. p. 66-70.

RODRIGUEZ, M. T. F.; ARTIGAS, R.; GUERRA, S.; SICA, A. B.; VÁZQUEZ, N.; NICOLINI, P.; QUINTELA, F. D.; LLAMBÍ, S. Detection of the Brachyspina mutation in Uruguayan Holstein cows using real time PCR and melting curve analysis. **Ciência Rural**, v. 51, e20200872, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200872>.

SILVA, M. V. G. B.; FERREIRA JUNIOR, E.; PANETTO, J. C. do C.; PAIVA, L. de C.; MACHADO, M. A.; REIS, D. R. de L.; DALTRO, D. dos S.; NEGRI, R.; KLUSKA, S.; MARTINS, M. F.; BORGES, C. A. V. (ed.). **Programa de Melhoramento Genético da Raça Girolando - sumário de touros - resultado do teste de progênie (avaliação genética/genômica) - junho 2022**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2022. 125 p. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 266).

Mapeamento do declínio da produção de leite e da redução do consumo alimentar de vacas leiteiras em decorrência do estresse térmico no período de verão no Sudeste do Brasil

Lucas Cantarino Soares Garcia⁽¹⁾, Ricardo Guimarães Andrade^(2,4), Marcos Cicarini Hott⁽²⁾, Walter Coelho Pereira de Magalhães Junior⁽³⁾, Claudio Napolis Costa⁽²⁾, Maria Gabriela Campolina Diniz Peixoto⁽²⁾, Maria de Fatima Ávila Pires⁽²⁾, Frank Angelo Tomita Bruneli^(2,4)

⁽¹⁾Graduando em Engenharia Elétrica – UFJF, Juiz de Fora, MG. e-mail: lucas.cantarino@engenharia.ufjf.br, ⁽²⁾Pesquisador(a), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. e-mail: frank.bruneli@embrapa.br, ⁽³⁾Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. e-mail: walter.magalhaes@embrapa.br, ⁽⁴⁾Orientador

Resumo- Alterações metabólicas e comportamentais em vacas leiteiras podem ocorrer devido ao estresse térmico. Assim, objetivou-se mapear o declínio da produção de leite (DPL) e a redução do consumo alimentar (RCA) de vacas em lactação em decorrência do estresse térmico nos meses de verão na região Sudeste do Brasil. Para tanto, foram utilizados dados meteorológicos provenientes do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). O DPL foi mais pronunciado conforme o aumento dos níveis de produção (NP) das vacas leiteiras. Para NP de 30 kg vaca⁻¹ dia⁻¹, o DPL máximo foi de 4 kg vaca⁻¹ dia⁻¹ em municípios da faixa litorânea do Rio de Janeiro e do Espírito Santo, sendo que nessa área o RCA máximo foi de 2 kg vaca⁻¹ dia⁻¹. Além disso, foram observados DPL de 2 kg vaca⁻¹ dia⁻¹ a 3 kg vaca⁻¹ dia⁻¹ e RCA de 0,51 kg vaca⁻¹ dia⁻¹ a 1,50 kg vaca⁻¹ dia⁻¹, nas mesorregiões de Presidente Prudente, Araçatuba, São José do Rio Preto, Triângulo Mineiro, Norte de Minas e parte dos Vales do Jequitinhonha, do Mucuri e do Rio Doce. Contudo, há predomínio das condições climáticas favoráveis a produção de leite no Sudeste do Brasil, sendo que algumas mesorregiões necessitam de maior atenção a possíveis perdas de produção no período de verão.

Termos para indexação: Bem-estar animal, bioclimatologia, bovinocultura leiteira, conforto térmico.

Mapping the decline in milk production and the reduction in food consumption due to thermal stress in the summer period in Southeastern Brazil

Abstract- Metabolic and behavioral changes in dairy cows can be induced under heat stress conditions. Thus, the objective was to map the decline in milk production (DMP) and the reduction in food consumption (RFC) due to thermal stress in the summer months in the Southeast region of Brazil. For this purpose, meteorological data from the National Institute of Meteorology (INMET) were used. The DMD was more pronounced as the production levels (NP) of dairy cows increased. For a PN of 30 kg cow⁻¹ day⁻¹, the maximum DMD was 4 kg cow⁻¹ day⁻¹ in cities along the coast of Rio de Janeiro and Espírito Santo, and in this coastal area, the maximum RFC was 2 kg cow⁻¹ day⁻¹. In addition, DMD from 2 kg cow⁻¹ day⁻¹ to 3 kg cow⁻¹ day⁻¹ and RFC from 0.51 kg cow⁻¹ day⁻¹ to 1.50 kg cow⁻¹ day⁻¹ were observed in the mesoregions of Presidente Prudente, Araçatuba, São José do Rio Preto,

Triângulo Mineiro, Norte de Minas and part of the Jequitinhonha, Mucuri and Rio Doce Valleys. However, there is a predominance of climatic conditions favorable to milk production in Southeastern Brazil, and some mesoregions need greater attention to possible production losses in the summer period.

Index terms: Animal welfare, bioclimatology, dairy cattle, thermal comfort.

Introdução

O Brasil está entre os cinco maiores produtores de leite do mundo, sendo que a região Sudeste é responsável por cerca 34% dessa produção. Apesar disso, conforme dados do IBGE, a produtividade do Sudeste ainda é considerada baixa (2.580,72 litros vaca⁻¹ ano⁻¹), sendo inferior à produtividade da região Sul em 1.038 litros vaca⁻¹ ano⁻¹ (IBGE, 2020). Vale ressaltar que a pecuária leiteira é um dos setores mais sensíveis às variações do clima, podendo ser afetada, direta ou indiretamente, pelas condições climáticas (Silva et al., 2010). Nos ambientes tropicais, em maior intensidade no verão, a elevada temperatura do ar associada à alta umidade relativa pode causar desconforto térmico aos animais, processo esse conhecido como estresse térmico (Rensis; Scaramuzzi, 2003; West, 2003; Nardone et al., 2010; Santana et al., 2020). Alterações metabólicas e comportamentais em vacas leiteiras podem ser induzidas pelo estresse térmico, tais como aumento da temperatura corporal e da frequência respiratória, bem como reduções no consumo alimentar e na produção de leite, ou seja, queda na eficiência produtiva dos animais (West, 2003; Srikanthakumar; Johnson, 2004; García-Ispierto et al., 2006). O Índice de Temperatura e Umidade (ITU) tem sido adotado em diversos modelos voltados para a avaliação da eficiência produtiva de vacas leiteiras sob condições de estresse térmico.

Assim, o presente estudo objetivou mapear o declínio da produção de leite (DPL) e a redução do consumo alimentar (RCA) por estresse térmico nos meses de verão na região Sudeste do Brasil. Diante dos resultados que serão apresentados a seguir, esta publicação vai ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, contribuindo para o alcance dos seguintes objetivos específicos: ODS 2: “Acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável; ODS 13: “Combate às Mudanças Climáticas: Tomar medidas urgentes para combater a mudança climática e seus impactos”.

Material e métodos

Foram utilizados dados meteorológicos (temperatura do ar e umidade relativa do ar) provenientes do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) oriundos de estações meteorológicas automáticas localizadas na região Sudeste do Brasil no período de janeiro de 2007 a dezembro de 2021. Na sequência, estimou-se o Índice de Temperatura e Umidade (ITU) ao aplicar a equação proposta por Bunffington et al. (1977):

$$\text{ITU} = 0,8 \text{ Tbs} + \text{UR} (\text{Tbs} - 14,3) / 100 + 46,3$$

Em que: Tbs é a temperatura de bulbo seco, °C; UR é a umidade relativa do ar, %; ITU é o índice de temperatura e umidade (ITU), adimensional. De posse desses dados foi possível aplicar técnicas de interpolação e, com isso, espacializar os dados de ITU para a

região Sudeste. Posteriormente, os dados de ITU foram empregados para gerar os mapas de DPL (Berry et al., 1964) e de RCA (Hahn; Osburn, 1969). Para tanto, foram utilizadas as equações desenvolvidas para vacas da raça holandesa:

$$DPL = - 1,075 - 1,736 NP + 0,02474 NP ITU$$

Em que: DPL é o declínio da produção de leite, expresso em kg vaca-1 dia-1; NP é o nível de produção de leite dos animais, em kg vaca-1 dia-1. O NP é utilizado como referência para representar uma situação em que o animal apresenta produtividade normal sob condições de termoneutralidade. No presente estudo foram considerados os valores de NP de 10 kg vaca-1 dia-1, 20 kg vaca-1 dia-1 e 30 kg vaca-1 dia-1. A partir dos valores de ITU também se estimou a RCA dos animais, por:

$$RCA = -28,23 + 0,391 ITU$$

Os modelos foram implementados por meio de software de geoprocessamento, possibilitando gerar as estimativas de forma espacializada para todo o Sudeste do Brasil.

Resultados e discussão

De acordo com os mapas de declínio da produção de leite, para os meses de verão na região Sudeste do Brasil (Figura 1), é possível observar que o DPL foi mais pronunciado conforme o aumento dos níveis de produção dos animais. Para NP de 10 kg vaca⁻¹ dia⁻¹ houve queda ao redor de 1 kg vaca⁻¹ dia⁻¹ numa faixa litorânea do Rio de Janeiro e do Espírito Santo (Figuras 1A, 1B, 1C e 1D), bem como na região de Presidente Prudente, SP (Figuras 1A e 1D). Para NP de 20 kg vaca⁻¹ dia⁻¹ verificou-se reduções de até 2 kg vaca⁻¹ dia⁻¹. Também foram observadas regiões de Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo com perdas de até 1 kg vaca-1 dia-1 (Figuras 1E, 1F, 1G e 1H). Já considerando NP de 30 kg vaca⁻¹ dia⁻¹ as perdas podem chegar até 4 kg vaca⁻¹ dia⁻¹ (classe de cor vermelha) em municípios do litoral do Rio de Janeiro e do Espírito Santo. Além disso, perdas de 2 kg vaca⁻¹ dia⁻¹ a 3 kg vaca⁻¹ dia⁻¹ foram observadas no Triângulo Mineiro, Norte de Minas, Presidente Prudente, Araçatuba, São José do Rio Preto e parte dos Vales do Jequitinhonha, do Mucuri e do Rio Doce (Figuras 1I, 1J, 1K e 1L).

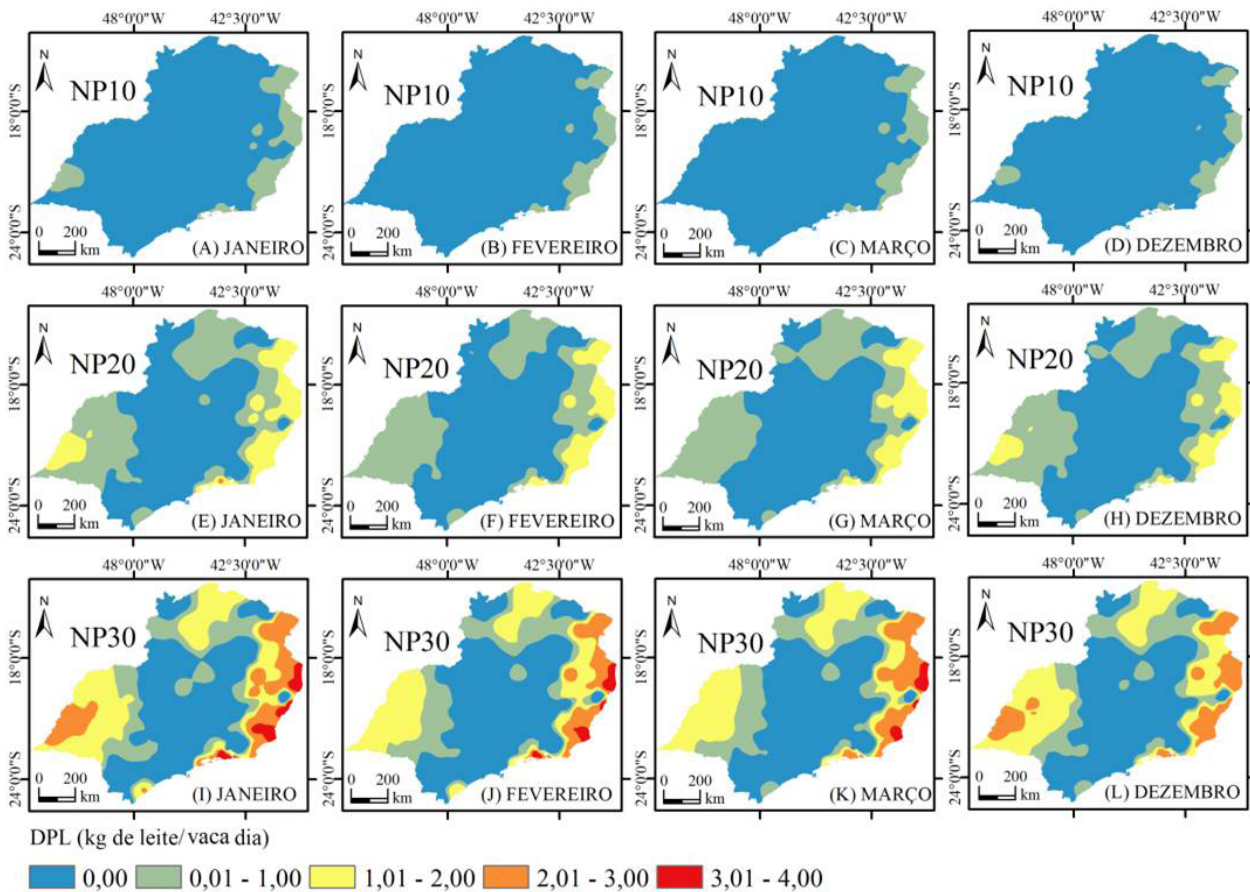


Figura 1. Mapas dos valores médios do declínio da produção de leite (DPL) para vacas lactantes com níveis de produção (NP) de 10 (A, B, C, D), 20 (E, F, G, H) e 30 kg vaca-1 dia-1 (I, J, K, L), nos meses de verão, para a região Sudeste do Brasil.

No que se refere à redução do consumo alimentar, conforme a Figura 2, nota-se que as contrações podem chegar a 2 kg vaca-1 dia-1 (classe de cor vermelha) em alguns municípios do litoral do Rio de Janeiro e do Espírito Santo (Figuras 2A, 2B e 2C). Por outro lado, valores de RCA variando de 0,51 a 1,50 kg vaca-1 dia-1 (tons de amarelo e laranja) predominaram nas mesorregiões de Presidente Prudente, Araçatuba, São José do Rio Preto, Norte de Minas e parte dos Vales do Jequitinhonha, do Mucuri e do Rio Doce.

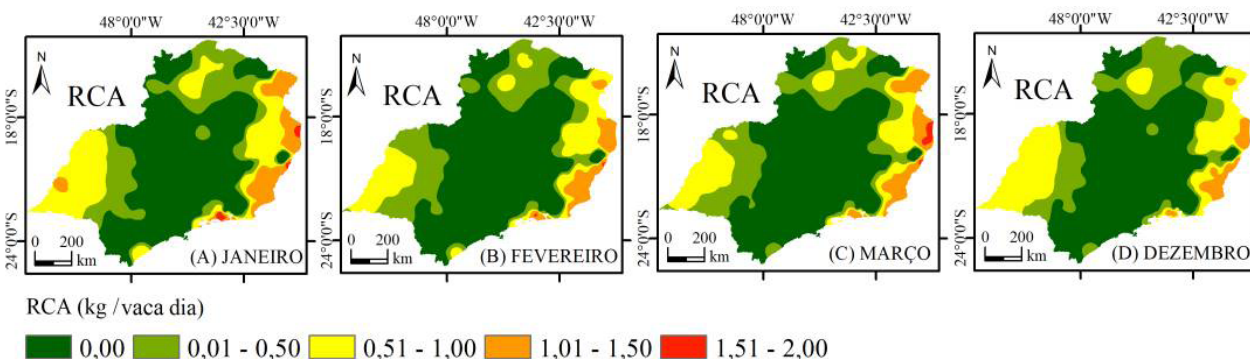


Figura 2. Mapas dos valores médios da redução do consumo alimentar (kg vaca-1 dia-1), nos meses de verão, para a região Sudeste do Brasil.

West (2003) observaram que cada unidade de ITU excedida corresponde a valores de DPL de 0,60 kg e 0,88 kg, para vacas leiteiras das raças Jersey e Holandesa, respectivamente. Em termos de RCA, esses autores verificaram valores de 0,47 kg e 0,51 kg, para vacas das raças Jersey e Holandesa, respectivamente. Em geral, conforme os resultados apresentados nas Figuras 1 e 2, verificou-se que em relação à abrangência territorial, há predomínio das condições climáticas favoráveis à produção de leite na região Sudeste, sendo que algumas mesorregiões necessitam de maior atenção quanto ao desconforto térmico e possíveis perdas de produção no período de verão.

Conclusões

O desconforto devido ao estresse térmico pode ser mais pronunciado conforme o aumento dos níveis de produção (NP) das vacas leiteiras. Os maiores impactos em termos de DPL e RCA foram observados em municípios da faixa litorânea do Rio de Janeiro e do Espírito Santo. Além disso, impactos de DPL e RCA também foram observados nas mesorregiões de Presidente Prudente, Araçatuba, São José do Rio Preto, Triângulo Mineiro, Norte de Minas e parte dos Vales do Jequitinhonha, do Mucuri e do Rio Doce. Contudo, conclui-se que há predomínio das condições climáticas favoráveis à produção de leite no Sudeste do Brasil, sendo que algumas mesorregiões necessitam de maior atenção quanto a possíveis perdas de produtividade no período de verão.

Referências

- BUNFFINGTON, D. E.; COLLAZO-AROCHO, A.; CANTON, G. H.; PITT, D.; THATCHER, W. W.; COLLIER, R. J. **Black globe-humidity comfort index for dairy cows**. St. Joseph: American Society of Agricultural Engineers, 1977. 19 p.
- BERRY, I. L.; SHANKLIN, M. D.; JOHNSON, H. D. Dairy shelter design based on milk production decline as affected by temperature and humidity. **Transactions of the ASAE**, v. 7, n. 3, p. 329-331, 1964. DOI: <http://doi.org/10.13031/2013.40772>.
- GARCÍA-ISPIERTO, I.; LÓPEZ-GATIUS, F.; SANTOLARIA, P.; YANIZ, J. L.; NOGAREDA, C.; LÓPEZ-BÉJAR, M.; RENSIS, F. Relationship between heat stress during the peri-implantation period and early fetal loss in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 65, n. 4, p. 799-807, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.06.011>.
- HAHN, G. L.; OSBURN, D. D. Feasibility of summer environmental control for dairy cattle based on expected production losses. **Transactions of the ASAE**, v. 12, n. 4, p. 448-451, 1969.
- IBGE. **PPM - Pesquisa da Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html>. Acesso em: 13 ago. 2023.
- NARDONE, A.; RONCHI, B.; LACETERA, N.; RANIERI, M. S.; BERNABUCCI, U. Effects of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems. **Livestock Science**, v. 130, n. 1/3, p. 57-69, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.02.011>.
- RENSIS, F.; SCARAMUZZI, R. J. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow: a review. **Theriogenology**, v. 60, n. 6, p. 1139-1151, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(03\)00126-2](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(03)00126-2).
- SANTANA, M. L.; PEREIRA, R. J.; BIGNARDI, A. B.; EL FARO, L.; PIRES, M. F. A.; ANDRADE, R. G.; PEREZ, B. C.; BRUNELI, F. A. T.; PEIXOTO, M. G. C. D. Dual-purpose Guzerá cattle exhibit high dairy performance under heat stress. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 137, n. 5, p. 486-494, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/jbg.12450>.

SILVA, T. G. F.; MOURA, M. S. B.; SÁ, I. I. S.; ZOLNIER, S.; TURCO, S. H. N.; SOUZA, L. S. B. Cenários de mudanças climáticas e seus impactos na produção leiteira em estados nordestinos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, n. 8, p. 863-870, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1415-43662010000800011>.

SRIKANDAKUMAR, A.; JOHNSON, E. H. Effect of heat stress on milk production, rectal temperature, respiratory rate and blood chemistry in Holstein, Jersey and Australian milking zebu cows. **Tropical Animal Health and Production**, v. 36, n. 7, p. 685-692, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1023/b:trop.0000042868.76914.a9>.

WEST, J. W. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 6, p. 2131-2144, 2003. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73803-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73803-X).

Monitoramento e avaliação da vegetação a partir de série de dados NDVI/MODIS

Isabelle Martins Dias⁽¹⁾, Marcos Cicarini Hott^(2,4), Ricardo Guimarães Andrade⁽²⁾, Walter Coelho Pereira de Magalhães Junior⁽³⁾

⁽¹⁾Graduanda em Geografia – UFJF/Juiz de Fora, MG. e-mail: dias.isabelle@estudante.ufjf.br, ⁽²⁾Pesquisador, Embrapa Gado de Leite – Juiz de Fora, MG. e-mail: marcos.hott@embrapa.br; ⁽³⁾Analista, Embrapa Gado de Leite – Juiz de Fora, MG. e-mail: walter.magalhaes@embrapa.br, ⁽⁴⁾Orientador

Resumo- A construção de um repositório acerca de séries temporais de imagens de satélites é de suma importância para compreensão da evolução do uso das terras. Os produtos do sensor MODIS/TERRA apresentam a fisionomia da vegetação em escala continental, com resolução de 250 m, permitindo diversas análises que envolvem as condições da vegetação. As imagens NDVI/MODIS/TERRA, gerados a cada 16 dias, se constituem em índices de vegetação apropriados para a avaliação da vegetação de extrato herbáceo, cujo dados retratam o vigor do dossel para tipologias de estrutura foliar com menor saturação, tais como das pastagens. O presente estudo objetivou estabelecer um banco de dados contendo a série histórica de imagens NDVI para todo o território brasileiro e, posteriormente, implementar a metodologia do coeficiente de inclinação da linha de regressão ajustada em cada pixel (Slope) visando monitorar o vigor da vegetação. Os mosaicos NDVI/MODIS, gerados de forma consistente, foram estruturados em banco de dados para estudos posteriores, como a aplicação da metodologia Slope nas áreas de pastagens. Uma análise geral do vigor vegetativo foi aplicada e verificou-se que a vegetação do bioma Caatinga está com tendência de recuperação de vigor. Além disso, foram observadas tendência de queda no vigor em boa parte da região Sul e central da Amazônia..

Termos para indexação: *Uso das terras, índice de vegetação, geoprocessamento, sensoriamento remoto.*

Vegetation monitoring and assessment from NDVI/MODIS data series

Abstract- The construction of a repository around time series of satellite images is of paramount importance for understanding the evolution of land use. MODIS/TERRA sensor products show the physiognomy of vegetation on a continental scale, with a resolution of 250 m, allowing for various analyzes involving vegetation conditions. The NDVI/MODIS/TERRA images, generated every 16 days, constitute appropriate vegetation indices for the assessment of herbaceous extract vegetation, whose data portray the vigor of the canopy for types of leaf structure with less saturation, such as those of pastures. The present study aimed to establish a database containing the historical series of NDVI images for the entire Brazilian territory and, subsequently, to implement the methodology of the slope coefficient of the regression line adjusted in each pixel (Slope) in order to monitor the vegetation vigor. The NDVI/MODIS mosaics, consistently generated, were structured in a database for further studies, such as the application of the Slope methodology in pasture areas. A general analysis of the vegetative vigor was applied and it was verified that the vegetation of the

Caatinga biome has a tendency to recover its vigor. In addition, a downward trend in vigor was observed in much of the southern and central Amazon region.

Index terms: Land use, vegetation index, geoprocessing, remote sensing.

Introdução

Com 35 bilhões de litros de leite produzidos anualmente (IBGE, 2021), a cadeia do leite se distribui por quase todo território brasileiro. Compreender as condições das pastagens é de suma importância, tendo em vista que a bovinocultura de leite a pasto predomina no País. O NDVI (Índice de Vegetação da Diferença Normalizada, na sigla em inglês) serve para analisar a condição da vegetação natural ou agrícola nas imagens geradas por sensores remotos. Este índice é bastante usado em análises de degradação ambiental e a respeito da produtividade de cultivos a partir de dados de reflectância e imagens de vários sensores de satélites (Liu, 2006; Ponzoni; Shimabukuro, 2010; Hott et al., 2019). Respostas consistentes em reflectância da vegetação no espectro eletromagnético do infravermelho próximo, onde o comprimento de onda é particularmente próximo ao vermelho, podem indicar condições mais saudáveis das plantas. A partir disto, constroem-se métricas tais como a metodologia de análise de regressão linear, que possibilita avaliar tendências de degradação ou de recuperação do vigor da vegetação ao longo do tempo. Os produtos do sensor MODIS (*Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer*), plataformas TERRA e AQUA, cobrem uma grande diversidade de temas geográficos e vem contribuindo para inúmeras pesquisas ao redor do mundo. Os produtos para a vegetação atendem às demandas de monitoramento das condições de vigor vegetativo no decorrer das últimas décadas e, no caso das pastagens, o NDVI fornece uma métrica sintética do estado geral do dossel herbáceo das áreas de pastagens nativas ou cultivadas. Além disso, pode ser utilizado como dado de entrada na metodologia de análise da tendência do vigor da vegetação a partir do coeficiente de inclinação da linha de regressão ajustada em cada pixel (*Slope*).

Assim, o presente estudo objetivou estabelecer um banco de dados contendo a série histórica de imagens NDVI para todo o território brasileiro e, posteriormente, implementar a metodologia “slope” para monitorar o vigor da vegetação. Diante dos resultados apresentados a seguir, esta publicação vai ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, contribuindo para o alcance dos seguintes objetivos específicos: ODS 2: “Acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável; ODS 15. Vida Sobre a Terra: Proteger, recuperar e promover o uso sustentável dos ecossistemas terrestres, gerir de forma sustentável as florestas, combater a desertificação, deter e reverter a degradação da terra e deter a perda de biodiversidade.

Material e métodos

Foram realizados downloads a partir da coleção 6 dos produtos MOD13Q1 disponibilizados pelo LP DAAC (*Land Processes Distributed Active Archive Center*), vinculado à NASA e ao Serviço Geológico dos Estados Unidos (USGS). Estas imagens são disponibilizadas online referentes a datas com intervalos de 16 dias entre si, tamanho de pixel de aproximadamente 250 m, em folhas que cobrem uma área de tamanho limitado e

em formato de arquivo *Hierarchical Data Format* (HDF). Para cada data disponível da série de 23 anos de dados, iniciando-se em 18 de fevereiro de 2000, foram baixados 19 quadrantes de imagens. Posteriormente, as imagens foram processadas por meio do software MRT (*Modis Reprojection Tools*), gerando arquivo mosaico de formato GeoTIFF para cada data disponível, assim como realizado por Araújo et al. (2021). Para o processamento das imagens no MRT foi selecionada apenas a banda de NDVI com projeção geográfica no Datum WGS84. A Figura 1 exemplifica o ambiente de entrada dos arquivos HDF originais para a construção dos mosaicos (A), cujas propriedades estão demonstradas com o uso do SIG (B). De posse da série histórica de NDVI foi possível aplicar a metodologia de análise da tendência do vigor da vegetação a partir do coeficiente de inclinação da linha de regressão ajustada em cada pixel (Slope), conforme equação:

$$Slope = \frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})(Y_{NDVI_i} - \bar{Y}_{NDVI})}{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2}$$

Em que, n é igual ao número total de anos da série de dados NDVI; i representa o ano 1 para o primeiro ano da série, ano 2 para o segundo ano da série e assim por diante até o último ano da série de dados NDVI utilizada; Y_{NDVI_i} é o valor máximo do NDVI no ano i.

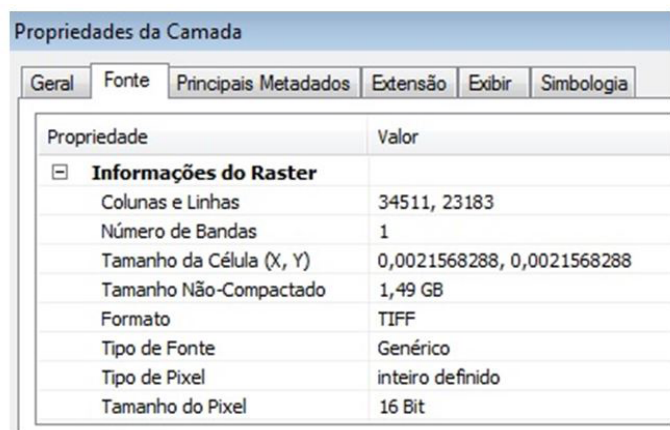
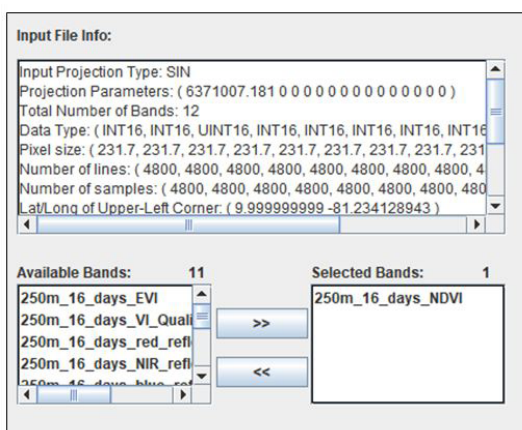


Figura 1. Parâmetros de processamento no software MRT.

B

Resultados e discussão

A partir da articulação de quadrantes das imagens NDVI/MODIS foram processados mosaicos cobrindo o território nacional para toda a série, como no exemplo da Figura 2A, configurando-se em um repositório de 533 planos de informação em GEOTIFF acerca do NDVI. Anteriormente, nos esforços de pesquisa e ensaios com o uso da série temporal, foram gerados resultados para o monitoramento do vigor vegetativo das pastagens na mesorregião da Zona da Mata, cujas camadas geográficas foram divulgadas na plataforma GeoInfo e no sistema WegGIS SIG Leite, indicando em torno de 60% de áreas de pastagens com algum nível de degradação. Posteriores resultados de processamento serão hospedados na plataforma GeoInfo e no WebGIS, como camadas ou banco de dados, para apoio ao monitoramento de pastagens. Nesse caso, já foram gerados resultados referentes à aplicação da metodologia de análise de tendência do vigor da vegetação a partir do coeficiente de inclinação da linha de regressão ajustada em cada pixel (*Slope*), conforme mostra a Figura 2B. Se *Slope* for positivo, indica que a vegetação pode estar em processo de recuperação, enquanto que valores negativos de *Slope* podem indicar a ocorrência de queda de vigor ou algum processo de degradação. Com base nesse princípio, na Figura 2B observa-se que há tendência de recuperação do vigor vegetativo (tons de verde), por exemplo, na região Nordeste e porção norte de Minas e do Espírito Santo. Por outro lado, boa parte da região Sul e central da Amazônia apresentaram queda de vigor vegetativo (tons de roxo), a partir da análise histórica dos dados de NDVI. Numa primeira análise, os resultados se mostraram consistentes e, posteriormente, será utilizada uma máscara/polígono das áreas de pastagens para gerar o *Slope* dessas no território brasileiro. Andrade et al. (2016) aplicaram a metodologia *Slope* para as pastagens cultivadas do Cerrado e observaram que, de acordo com o cenário estipulado, a área de pastagem degradada pode variar de 24% (cenário mais otimista) a 60% (cenário mais realista).

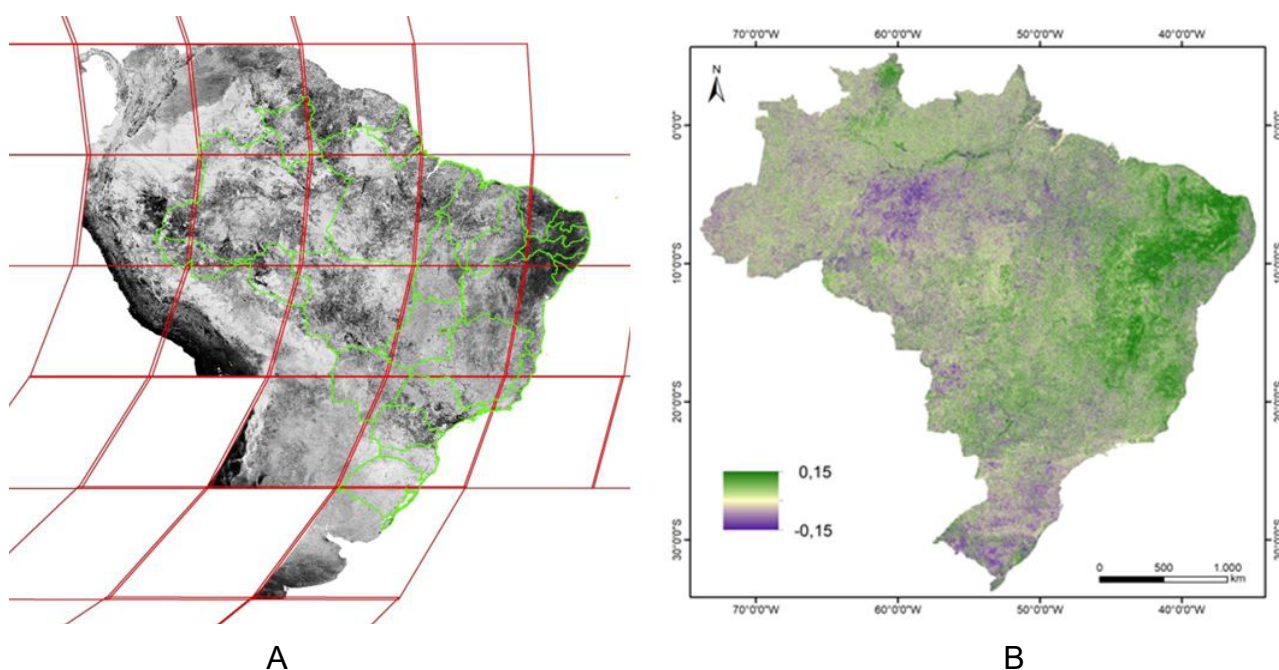


Figura 2. (A) mosaico NDVI/MODIS do satélite Terra, e layers de articulação do produto e dos estados brasileiros; (B) mapa do coeficiente de inclinação da linha de regressão ajustada em cada pixel (*Slope*).

Conclusões

Os mosaicos NDVI/MODIS, gerados de forma consistente, foram estruturados em banco de dados para estudos posteriores, como a aplicação da metodologia de análise do coeficiente de inclinação da linha de regressão ajustada em cada pixel (*Slope*) nas áreas de pastagens. Uma análise geral do vigor vegetativo foi aplicada e verificou-se que a vegetação do bioma Caatinga está com tendência de recuperação de vigor. Além disso, foram observadas tendência de queda no vigor em boa parte da região Sul e central da Amazônia.

Referências

- ANDRADE, R. G.; BOLFE, E. L.; VICTORIA, D. C.; NOGUEIRA, S. F. Geotecnologia: recuperação de pastagens no Cerrado. **Agroanalysis**, v. 36, p. 30-33, 2016.
- ARAÚJO, P. C. de; HOTT, M. C.; ANDRADE, R. G.; MAGALHÃES JÚNIOR, W. C. P. de; CUSTODIO, D. de O.; COSTA, P. R. da. Elaboração de procedimentos metodológicos para monitoramento das condições das pastagens por métricas em sensoriamento remoto. In: PASSOS, L. P. (ed.). **Coletânea de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite-PIBIC CNPq 2020-2021**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2021. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 262).
- HOTT, M. C.; CARVALHO, L. M. T.; ANTURNES, M. A. H.; RESENDE, J. C. de; ROCHA, W. S. D. da. Analysis of grassland degradation in Zona da Mata, MG, Brazil, based on NDVI time series data with the integration of phenological metrics. **Remote Sensing**, v. 11, n. 24, article 2956, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/rs11242956>.
- IBGE. **PPM - Pesquisa da Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro, 2021. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html>. Acesso em: 13 ago. 2023.
- LIU, W. T. H. **Aplicações de sensoriamento remoto**. Campo Grande: Uniderp, 2006. 908 p.
- PONZONI, F. J.; SHIMABUKURO, Y. E. **Sensoriamento remoto no estudo da vegetação**. São José dos Campos: Parêntese, 2010. 127 p.

O estresse térmico por calor altera a saúde em bezerros leiteiros?

Anaclara Romano Schmitz Loures⁽¹⁾, Mariana Brito Gomes⁽²⁾, Luiz Felipe Martins Neves⁽³⁾, Sabrina Evelin Ferreira⁽⁴⁾, Abias Santos Silva⁽⁵⁾, Sandra Gesteira Coelho⁽⁶⁾, Wanessa Araújo Carvalho⁽⁷⁾, Mariana Magalhães Campos^(7,8)

⁽¹⁾Graduanda em Medicina Veterinária – UNIPAC, Juiz de Fora, MG. E-mail: anaclarars@gmail.com, ⁽²⁾Mestranda do PPG em Zootecnia – EV/UFMG, Belo Horizonte, MG, ⁽³⁾Doutorando do PPG em Zootecnia – EV/UFMG, Belo Horizonte, MG, ⁽⁴⁾Graduanda em Medicina Veterinária – UFJF, Juiz de Fora, MG, ⁽⁵⁾Pós-doutorando – Embrapa Gado de Leite, Coronel Pacheco, MG, ⁽⁶⁾Professora titular da Escola de Veterinária – UFMG, Belo Horizonte, MG, ⁽⁷⁾Pesquisadora Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, ⁽⁸⁾Orientadora

Resumo- Objetivou-se avaliar o efeito do estresse térmico por calor no escore de saúde e dias em diarreia em bezerros leiteiros. O estudo foi conduzido sob delineamento inteiramente casualizado. Foram utilizados 35 animais distribuídos em dois tratamentos: i) controle (17 bezerros) – os animais mantidos em zona termoneutra em câmara climática desde o nascimento com índice de temperatura e umidade (ITU) de $66,1 \pm 3,25$ durante 24 h/dia em todo o período experimental (30 dias) e ii) estresse térmico por calor (ETC; 18 bezerros) – os animais foram mantidos na câmara climática desde o nascimento com temperatura média de 30 °C e umidade de 65% (ITU= $82,7 \pm 1,39$) durante nove horas (6h31min às 15h30min). Após esse período, a temperatura foi reduzida para 21 °C e a umidade mantida em 65% (Zona termoneutra [(ZT); seis machos e 11 fêmeas] com índice de temperatura e umidade (ITU) 66 por 15 h/dia durante todo o período experimental. O escore de saúde e dias em diarreia não foram influenciados pelos tratamentos ($P > 0,05$). O estresse térmico por calor não altera os escores nasais, oculares e de fezes. Ademais, o estresse térmico por calor não aumenta os dias em diarreia em bezerros leiteiros.

Termos para indexação: adaptação fisiológica, diarreia, escore, termoneutralidade.

Can the heat stress influence the dairy calf's health?

Abstract- The aim was to see how heat stress affected the health score and number of days in diarrhea in dairy calves. The study used a completely randomized design. Thirty-five animals were divided into two groups: i) control (17 experimental units) - animals kept in a thermoneutral zone in a climatic chamber since birth with a temperature and humidity index (THI) of 66.1 ± 3.25 during 24 h/day throughout the experimental period (30 days) and ii) heat stress (ETC; 18 experimental units) - the animals were kept in the climatic chamber from birth with an average temperature of 30 °C and humidity of 65% (ITU= 82.7 ± 1.39). Following this period, the temperature decreased to 21 °C and the humidity was maintained. Health score and days in diarrhea were not influenced by treatments ($P > 0.05$). Heat stress does not alter nasal, ocular, and feces scores. Furthermore, heat stress does not increase days in diarrhea in dairy calves.

Index terms: physiological adaptation, diarrhea, score, thermoneutrality.

Introdução

Bovinos de leite sob estresse térmico por calor aumentam a eficiência de perda de calor entre a superfície corporal e o ambiente por meio do aumento da frequência respiratória e sudorese (Carter et al., 2014). Contudo, ocorre desvio da energia de manutenção para dissipação de calor, o que pode gerar uma redução da capacidade do sistema imune em resposta aos patógenos (Tao; Dahl, 2013).

Peña et al. (2016) observaram aumento do risco (0,30; $P = 0,03$) de lacrimejamento e crostas nos olhos e descarga nasal purulenta (2,87; $P = 0,02$) em bezerros nascidos no verão que sofreram estresse térmico por calor comparado com bezerros nascidos no inverno, embora um estudo mais recente não tenha observado efeito do estresse térmico por calor na incidência de diarreia em bezerros leiteiros (Lee et al., 2019). Apesar dos resultados serem contrastantes, é imprescindível a manutenção do conforto térmico para bezerros leiteiros, especialmente em condições de clima tropical.

Nesse sentido, objetivou-se avaliar o escore de saúde e dias em diarreia de bezerros leiteiros da raça Holandesa nos primeiros 30 dias de vida. Diante dos resultados a seguir apresentados, esta publicação vai ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, nos seguintes objetivos específicos: ODS 2: “Acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável; ODS 12: “Assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis”.

Material e métodos

Todos os procedimentos envolvendo animais foram aprovados pelo Comitê Local de Ética em Experimentação Animal da Embrapa Gado de Leite (nº 4115231121). O estudo foi conduzido segundo o delineamento inteiramente casualizado. Foram utilizados 35 animais distribuídos em dois tratamentos: i) controle (17 unidades experimentais) – os animais mantidos em zona termoneutra em câmara climática desde o nascimento com índice de temperatura e umidade (ITU) de $66,1 \pm 3,25$ durante 24 h/dia em todo o período experimental (30 dias) e ii) estresse térmico por calor (ETC; 18 unidades experimentais) – os animais foram mantidos na câmara climática desde o nascimento com temperatura média de 30 °C e umidade de 65% (ITU= $82,7 \pm 1,39$) durante oito horas (6h30min às 15h30min). Após esse período, a temperatura foi reduzida para 21 °C e a umidade mantida em 65% (Zona termoneutra [(ZT); seis machos e 11 fêmeas] com índice de temperatura e umidade (ITU) 66 por 15 h/dia durante todo o período experimental.

Logo após o nascimento, os bezerros tiveram o umbigo higienizado com solução de iodo a 10%, e o colostro foi fornecido (brix 25°) em quantidade correspondente a 10% do peso vivo. A segunda colostragem foi realizada oito horas após a primeira (5% do peso ao nascimento). Nos três dias seguintes, os bezerros receberam leite de transição, e após esse período iniciou-se o aleitamento com leite integral. No aleitamento foram fornecidos seis litros de leite, divididos em dois aleitamentos diários. A água e concentrado [20% de proteína bruta (PB)] foram disponibilizados *ad libitum* desde o primeiro dia de vida.

Os escores de saúde e dias em diarreia foram avaliados por meio visual, por um único avaliador treinado com base nos seguintes escores:

- **Nasal:**
 - 0 = normal com descarga serosa;
 - 1 = pequena quantidade de descarga turva unilateral;
 - 2 = secreção bilateral turva ou excessiva secreção de muco;
 - 3 = secreção bilateral mucopurulenta intensa.
- **Ocular:**
 - 0 = normal sem descarga;
 - 1 = pequena quantidade de secreção;
 - 2 = quantidade moderada de secreção bilateral;
 - 3 = secreção ocular intensa.
- **Fezes:**
 - 0 = normal com consistência firme;
 - 1 = forma bolo, mas não mantém a forma e se espalha ligeiramente;
 - 2 = semilíquidas e se espalha rapidamente;
 - 3 = aquosas.

A diarreia foi definida quando as fezes se apresentavam semilíquidas sem formação de placas fecais.

Os dados de escore de saúde foram analisados usando o procedimento npar1way do SAS, enquanto os dias em diarreia foram analisados usando o modelo de regressão logística, por meio do procedimento LOGISTIC do SAS e os resultados foram interpretados com seus respectivos intervalos de confiança a 95%. Significância estatística foi considerada quando $P \leq 0,05$.

Resultados e discussão

Não houve influência do estresse por calor nos escores nasais ($P = 0,09$), ocular ($P = 0,12$) e de fezes ($P = 0,79$; Tabela 1).

Tabela 1. Teste da capacidade de fagocitose de monócitos de bovinos após administração oral de cinco diferentes doses 0, 12, 36, 60 e 84 mg/kg de peso vivo/dia de beta-glucana (G0, G1, G2, G3 e G4) nos dias 1, 29 e 33 (D01, D29 e D33). Os valores estão representados pela porcentagem média em relação ao controle da contagem do número de colônias de *E. coli* ($p > 0,05$).

Item	Controle				Calor				P-valor
	Escore (%)								
	0	1	2	3	0	1	2	3	
Nasal ¹	32,1	13,2	3,77	-	33,9	13,2	3,77	-	0,09
Ocular ²	33,3	13,7	0,00	-	35,3	15,7	1,96	-	0,12
Fezes ³	14,2	14,2	13,3	10,0	15,0	13,3	10,8	9,17	0,79

¹Nasal: 0 = normal com descarga serosa; 1 = pequena quantidade de descarga turva unilateral; 2 = secreção bilateral turva ou excessiva secreção de muco; 3 = secreção bilateral mucopurulenta intensa. ²Ocular: 0 = normal sem descarga; 1 = pequena quantidade de secreção; 2 = quantidade moderada de secreção bilateral; 3 = secreção ocular intensa. ³Fezes: 0 = normal com consistência firme; 1 = forma bolo, mas não mantém a forma e se espalha ligeiramente; 2 = semilíquidas e se espalha rapidamente; 3 = aquosas.

Vacas e novilhas são mais susceptíveis ao estresse térmico por calor, no entanto bezerros parecem apresentar mecanismos mais eficientes para debelar calor devido a relação massa:superfície (Broucek et al., 2009). Dias em diarreia não foi influenciado pelo estresse térmico por calor ($P = 0,86$; Figura 1). O estresse por calor não aumentou os dias em diarreia.

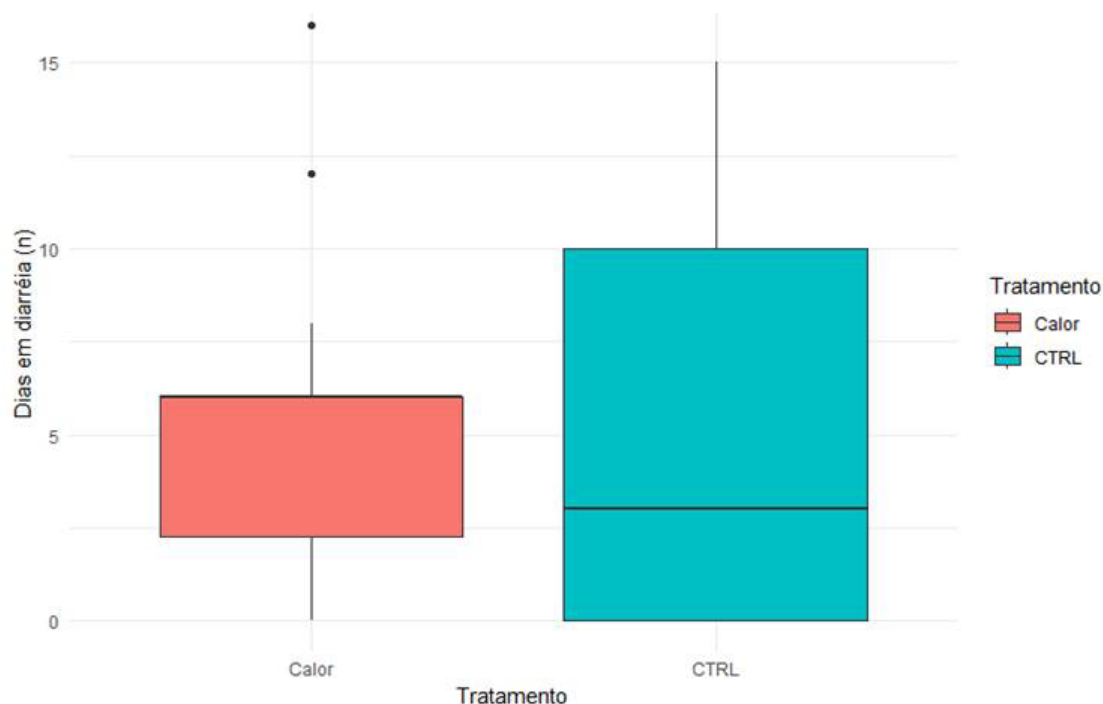


Figura 1. Dias em diarreia de bezerros holandeses em estresse térmico por calor nos primeiros 30 dias de vida ($P = 0,87$). Barras indicam o erro padrão da média. CTRL = Controle

Fatores como condições climáticas e imunológicas, idade do animal e higiene influenciam diretamente na ocorrência da doença, contudo isto não foi confirmado no presente estudo. Em contraste com o presente estudo, bezerros submetidos a estresse térmico por calor apresentam maior risco de incidência de diarreia (Tang et al., 2022). Como discutido anteriormente, a incidência de diarreia em bezerros sob estresse térmico por calor pode estar relacionada à redução da capacidade imunológica, permitindo a entrada de patógenos, principalmente *E. coli* (Coura et al., 2014).

Conclusões

O estresse térmico por calor não altera os escores nasais, oculares e de fezes. Ademais, o estresse térmico por calor não aumenta os dias em diarreia em bezerros leiteiros.

Agradecimentos

Agradeço ao CNPq, aos alunos de pós-graduação Luiz Felipe Martins Neves e Mariana Brito Gomes pelas correções e ensinamentos que me permitiram apresentar um melhor desempenho, à pesquisadora Mariana Magalhães Campos e toda equipe da Embrapa Gado de Leite.

Referências

- BROUCEK, J.; KISAC, P.; UHRINCAT, M. Effect of hot temperatures on the hematological parameters, health and performance of calves. **International Journal of Biometeorology**, v. 53, n. 2, p. 201-208, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00484-008-0204-1>.
- CARTER, B. H.; FRIEND, T. H.; GAREY, S. M.; SAWYER, J. A.; ALEXANDER, M. B.; TOMAZEWSKI, M. A. Efficacy of reflective insulation in reducing heat stress on dairy calves housed in polyethylene calf hutches. **International Journal of Biometeorology**, v. 58, n. 1, p. 51-59, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00484-012-0623-x>.
- COURA, F. M.; LAGE, A. P.; HEINEMANN, M. B. Patotipos de Escherichia coli causadores de diarréia em bezerros: uma atualização. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 9, p. 811-818, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2014000900001>.
- LEE, J.-S.; KACEM, N.; KIM, W.-S.; PENG, D. Q.; KIM, Y.-J.; JOUNG, Y.-G.; LEE, C.; LEE, H.-G. Effect of saccharomyces boulardii supplementation on performance and physiological traits of holstein calves under heat stress conditions. **Animals**, v. 9, n. 8, article 510, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390%2Fani9080510>.
- PEÑA, G.; RISCO, C.; KUNIHURO, E.; THATCHER, M. J. Effect of housing type on health and performance of preweaned dairy calves during summer in Florida. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 2, p. 1655-1662, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10164>.
- TANG, C.; LIANG, Y.; GUO, J.; WANG, M.; LI, M.; ZHANG, H.; ARBAB, A. A. I.; KARROW, N. A.; YANG, Z.; MAO, Y. Effects of seasonal heat stress during late gestation on growth performance, metabolic and immuno-endocrine parameters of calves. **Animals**, v. 12, n. 6, article 716, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390%2Fani12060716>.
- TAO, S.; DAHL, G. E. Invited review: heat stress effects during late gestation on dry cows and their calves. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 7, p. 4079-4093, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6278>.

Parâmetros ruminais de bezerros da raça Holandesa submetidos a estresse térmico por calor e pela amplitude térmica até os 28 dias de idade

Sabrina Evelin Ferreira⁽¹⁾, Mariana Brito Gomes⁽²⁾, Luiz Felipe Martins Neves⁽³⁾, Camila Sousa da Silva⁽⁴⁾, Sandra Gesteira Coelho⁽⁵⁾, Wanessa de Araújo Carvalho⁽⁶⁾, Mariana Magalhães Campos^(6,7)

⁽¹⁾Bolsista Pibic CNPq, Graduada em Medicina Veterinária – UFJF, Juiz de Fora, MG. E-mail: ferreira.sabrinae@gmail.com, ⁽²⁾Mestre em Zootecnia - EV/UFMG, Belo Horizonte, MG, ⁽³⁾Doutor em Zootecnia – EV/UFMG, Belo Horizonte, MG, ⁽⁴⁾Pós doutoranda – Embrapa Gado de Leite, Coronel Pacheco, MG, ⁽⁵⁾Professora titular da Escola de Veterinária – UFMG, Belo Horizonte, MG, ⁽⁶⁾Pesquisadora Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, ⁽⁷⁾Orientadora

Resumo- O presente estudo avaliou os efeitos do estresse térmico por calor e pela amplitude térmica em parâmetros ruminais de bezerros holandeses com 28 dias de idade. Para tal, os bezerros foram alojados em câmara climática com controle de temperatura e umidade e submetidos a três condições climáticas distintas: zona termoneutra, com temperatura (T°) de 22 °C e umidade relativa (UR) de 65% (ITU = 66); estresse por calor (T° = 22 °C e UR = 65%; ITU = 82); e amplitude térmica (9 horas em estresse por calor, 3 horas em zona termoneutra, 9 horas em estresse pelo frio (T° = 14 °C, UR = 65%; ITU=54) e, novamente, 3 horas em zona termoneutra). Amostras de líquido ruminal foram coletadas aos 28 dias de idade para avaliação do pH e das concentrações de acetato, propionato, butirato, concentração total de ácidos graxos de cadeia curta, relação acetato: propionato, relação acetato: butirato e nitrogênio amoniacal (N-NH₃). O estresse causado por amplitude térmica não promoveu alterações nos parâmetros ruminais de bezerros da raça Holandesa na fase de aleitamento. Por outro lado, bezerros submetidos a estresse térmico por calor apresentaram menor concentração de acetato e N-NH₃ em relação àqueles mantidos em zona termoneutra, demonstrando que o estresse térmico pelo calor influencia os parâmetros ruminais de bezerros em aleitamento.

Termos para indexação: alterações de temperatura, bezerros em aleitamento, ITU, saúde ruminal.

Rumen parameters of Holstein calves subjected to heat stress and thermal amplitude up to 28 days of age

Abstract- The present study evaluated the effects of heat stress and thermal amplitude on ruminal parameters of Holstein calves up to 28 days of age. For this purpose, the calves were placed in a climate-controlled chamber and subjected to three distinct climate conditions: thermoneutral zone, thermoneutral zone, with temperature (T°) of 22 °C and relative humidity (RH) of 65% (THI = 66); heat stress (T° = 22 °C and RH = 65%; THI = 82); and thermal amplitude (9 hours in heat stress, 3 hours in thermoneutral zone, 9 hours in cold stress (T° = 14 °C, RH = 65%; THI=54) and again 3 hours in thermoneutral zone). Rumen fluid samples

were collected at 28 days of age to evaluate pH and concentrations of acetate, propionate, butyrate, total short-chain fatty acid concentration, acetate: propionate ratio, acetate: butyrate ratio and ammoniacal nitrogen (N-NH₃). Stress caused by thermal amplitude does not promote significant changes in ruminal parameters of pre-weaning Holstein calves. On the other hand, calves submitted to heat stress showed lower acetate and N-NH₃ concentrations compared to those kept in a thermoneutral zone, demonstrating that heat stress influences the rumen parameters of calves in the pre-weaning phase.

Index terms: temperature variations, pre-weaning calves, rumen health, THI.

Introdução

O estresse térmico pelo calor tem efeitos marcantes sobre o desempenho de vacas leiteiras de alta produção, podendo reduzir em 0,335 kg/dia a produção de leite (Gantner et al., 2017). Do mesmo modo, animais jovens podem ter seu desempenho (Wang et al., 2020) e consumo de matéria seca (CMS) comprometidos pelo estresse térmico pelo calor, deprimindo em até 12% o CMS (O'Brien et al., 2010).

Sabe-se que, além de impactar negativamente o desempenho e consumo de alimentos, o estresse térmico por calor causa alterações na microbiota e fermentação ruminal (Tajima et al., 2007). Em se tratando de bezerros em aleitamento, modificações no padrão de fermentação poderiam interferir na saúde ruminal e desenvolvimento do neonato em ruminante funcional (Arshad et al., 2021) e ter consequências extremas sobre o sucesso da vida produtiva. Contudo, ainda são escassos na literatura os efeitos do estresse térmico sobre os parâmetros ruminais de bezerros em aleitamento. Além disso, é possível que a fermentação ruminal de bezerros submetidos ao estresse pelas variações em amplitude térmica responda de modo diferente daqueles mantidos unicamente em condições de estresse térmico por calor.

Objetivou-se, assim, analisar os efeitos do estresse térmico por calor e pela amplitude térmica sobre os parâmetros ruminais de bezerros leiteiros da raça Holandesa aos 28 dias de vida. Diante dos resultados apresentados, esta publicação vai ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, nos seguintes objetivos específicos: ODS 2: “Acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável; ODS 12: “Assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis”.

Material e métodos

Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Embrapa Gado de Leite, sob o protocolo nº 4115231121. O experimento foi conduzido no Laboratório Multiusuário de Bioeficiência e Sustentabilidade da Pecuária (LMBS), da Embrapa Gado de Leite, localizado em Coronel Pacheco - MG.

Foram utilizados 52 bezerros da raça Holandesa (22 machos e 30 fêmeas) com peso vivo inicial médio de 35,3 kg ± 4,63 kg. Após o nascimento, os bezerros foram submetidos à cura de umbigo com solução de iodo 10% e receberam colostro em quantidade

correspondente a 10% do peso vivo. A segunda colostragem foi realizada oito horas após a primeira, sendo fornecido 5% do peso vivo ao nascimento. Após o período de colostragem, os bezerros foram alojados em câmara climática com controle de temperatura (T°) e umidade relativa (UR) e submetidos a três condições climáticas distintas: zona termoneutra (grupo controle; $n = 6$ machos e 11 fêmeas), amplitude térmica ($n = 7$ machos e 10 fêmeas) e estresse térmico por calor ($n = 9$ machos e 9 fêmeas). No grupo controle (zona termoneutra), os animais foram mantidos a 22°C e 65% de umidade (ITU = 66) durante 24 horas/dia. O grupo estresse térmico por calor permaneceu 15 horas por dia em zona termoneutra (das 15h31min às 6h30min) e 9 horas por dia em estresse por calor ($T^{\circ} = 32^{\circ}\text{C}$, UR = 65%; ITU=84), das 6h31min às 15h30min. O grupo amplitude térmica foi submetido a variações entre a zona termoneutra, estresse térmico por calor e estresse térmico pelo frio (14°C , 65% umidade; ITU=54), no qual os animais foram submetidos ao estresse térmico por calor durante 9 horas/dia (6h31min - 15h30min), à zona termoneutra por 3 horas/dia (15h31min - 18h30min), estresse térmico pelo frio por 3 horas/dia (das 18h31min - 3h30min) e novamente à zona termoneutra por 3 horas/dia (3h31min - 6h30min).

A dieta líquida foi composta por leite integral (6 L/dia) fornecido diariamente em dois aleitamentos, às 7h30min e 14h30min. Água e concentrado formulado com farelo de milho, farelo de soja e núcleo mineral (20% de proteína bruta, 4,05 Mcal/kg MS) foram fornecidos *ad libitum* desde o primeiro dia de vida em baldes identificados, com 20% de sobras permitida.

Para avaliação dos parâmetros ruminais, foram coletadas amostras de líquido ruminal aos 28 dias de idade, 3 horas após o aleitamento da manhã, utilizando sonda oroesofágica. Após a coleta, as amostras foram filtradas em gaze e a avaliação do pH se deu por meio de pHmetro portátil (pHmetro T-1000, Tekna, Araucária, Brasil). As concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no ambiente ruminal foram determinadas a partir de uma alíquota de 10mL de líquido ruminal segundo procedimento descrito por Lage et al. (2020). Uma segunda alíquota (10 mL) foi utilizada para a determinação das concentrações de nitrogênio amoniacal - N-NH_3 (Chaney; Marbach, 1962). A absorvância foi medida em 630 nm (Thermo Fisher Scientific, Madison, WI, EUA) após destilação em Kjeldahl com óxido de magnésio e cloreto de cálcio de acordo com o Método 920.03 (Association of Official Analytical Chemists, 2012).

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com três tratamentos (condições climáticas) e 17 repetições (com exceção do grupo estresse por calor, para o qual $n = 18$). Os dados foram analisados através do PROC GLIMMIX do SAS (*Statistical Analysis Systems*, versão 9.3) e as médias dos tratamentos estresse térmico por calor e pela amplitude térmica foram comparadas com o grupo controle (zona termoneutra) utilizando o teste Dunnett. As diferenças entre médias foram consideradas significativas quando $P < 0,05$.

Resultados e discussão

Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) na concentração ruminal de propionato, butirato e total de AGCC ou nas relações acetato:propionato e acetato:butirato entre bezerros submetidos ao estresse térmico por calor ou amplitude térmica em relação aos animais mantidos na zona termoneutra. No entanto, os bezerros submetidos ao estresse térmico

por calor apresentaram menor concentração de acetato e N-NH₃ no rúmen ($P < 0,05$) em comparação aos animais na zona termoneutra (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito do estresse térmico por calor e amplitude térmica sobre parâmetros ruminais de bezerros da raça Holandesa nos primeiros 28 dias de vida.

Item	Zona Termoneutra	Estresse por Calor	Estresse pela Amplitude Térmica	EPM	P-valor
pH	6,25	6,10	6,31	0,02	0,63
Acetato, mmol/mL	22,40 ^a	13,27 ^b	21,50 ^a	0,14	0,01
Propionato, mmol/mL	11,37	6,98	8,31	0,20	0,23
Butirato, mmol/mL	4,25	2,61	3,49	0,20	0,26
Relação A:P ¹	1,97	1,90	2,59	0,10	0,07
Relação A:B ²	5,26	5,04	6,16	0,14	0,57
AGCC total (mmol/mL)	38,91	23,60	34,20	0,15	0,07
N-NH ₃ (mg/dL)	13,87 ^a	7,69 ^b	17,50 ^a	0,15	0,01

¹Acetato:propionato; ²Acetato:butirato. Diferenças consideradas significativas pelo teste de Dunnett a $P < 0,05$.

Em relação à produção de ROS, podemos observar uma diferença significativa entre animais Gir e HPB após a primeira infestação por carrapatos (Figura 3). Essa produção aumenta gradativamente de acordo com a exposição ($P < 0,05$, Two-Way Anova) sendo que animais Gir apresentam maiores níveis após a segunda infestação. Esses radicais livres possuem papéis ambivalentes, amplificando a inflamação do hospedeiro (Hernandez et al., 2022), que por sua vez facilita o ingurgitamento do carrapato e desestabiliza seu metabolismo energético, afetando o ingurgitamento e seu ciclo de vida.

Tajima et al. (2007) reportaram diminuição da proporção de acetato e um aumento na proporção de butirato em novilhas expostas a temperaturas mais altas, concluindo que a temperatura e umidade do ambiente em que os animais estão inseridos influenciam a composição bacteriana ruminal devido ao seu impacto sobre o consumo de alimentos. Estas observações podem justificar a menor concentração de acetato e N-NH₃ encontrada em nosso estudo, já que alterações na microbiota ruminal podem modificar o perfil de fermentação ruminal. No entanto, Gaafar et al. (2021) observaram maior concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen de bezerros sob estresse térmico, o que difere de nossos resultados em que bezerros estressados por calor apresentaram redução da concentração de N-NH₃ no rúmen. Estas diferenças provavelmente estão relacionadas ao consumo de água, concentrado e composição da dieta.

Conclusões

O estresse térmico por calor influencia os parâmetros ruminais de bezerros da raça Holandesa na fase de aleitamento, apresentando menor concentração ruminal de acetato e amônia em comparação a animais mantidos em zonas termoneutras. O estresse por amplitude térmica não promove alterações nos parâmetros ruminais de bezerros da raça Holandesa na fase de aleitamento.

Agradecimentos

Agradecimento a toda equipe da Embrapa Gado de Leite, em especial à doutora Mariana Magalhães e aos funcionários do Campo Experimental José Henrique Bruschi. À Msc. Mariana Brito, ao doutor Luiz Felipe e ao aluno de pós-graduação Saulo Moreira.

Referências

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. 19th ed. Gaithersburg, 2012.

ARSHAD, M. A.; HASSAN, F.-U.; REHMAN, M. S.; HUWS, S. A.; CHENG, Y.; DIN, A. U. Gut microbiome colonization and development in neonatal ruminants: strategies, prospects, and opportunities. **Animal Nutrition**, v. 7, n. 3, p. 883-895, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2021.03.004>.

CHANEY, A. L.; MARBACH, E. P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v. 8, n. 2, p. 130-132, 1962. DOI: <https://doi.org/10.1093/clinchem/8.2.130>.

GAAFAR, H. M. A.; EL-NAHRAWY, M. M.; MESBAH, R. A.; SHAMS, A. Sh.; SAYED, S. K.; ANAS, A. A. Badr. Impact of heat stress on growth performance and some blood and physiological parameters of suckling Friesian calves in Egypt. **International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences**, v. 11, n. 3, p. 545-565, 2021. DOI: <https://doi.org/10.26502/ijpaes.202121>.

GANTNER, V.; BOBIC, T.; GANTNER, R.; GREGIC, M.; KUTEROVAC, K.; NOVAKOVIC, J.; POTOČNIK, K. Differences in response to heat stress due to production level and breed of dairy cows. **International Journal of Biometeorology**, v. 61, p. 1675-1685, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00484-017-1348-7>.

LAGE, C. F. A.; COELHO, S. G.; DINIZ NETO, H. C.; MALACCO, V. M. R.; RODRIGUES, J. P. P.; SACRAMENTO, J. P.; TEIXEIRA, V. A.; MACHADO, F. S.; PEREIRA, L. G. R.; TOMICH, T. R.; CAMPOS, M. M. Relationship between feed efficiency indexes and thermography, blood, and ruminal parameters in pre-weaning dairy heifers. **PLoS ONE**, v. 15, n. 7, e0236118, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236118>.

O'BRIEN, M. D.; RHOADS, R. P.; SANDERS, S. R.; DUFF, G. C.; BAUMGARD, L. H. Metabolic adaptations to heat stress in growing cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 38, n. 2, p. 86-94, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2009.08.005>.

TAJIMA, K.; NONAKA, I.; HIGUCHI, K.; TAKUSARI, N.; KURIHARA, M.; TAKENAKA, A.; MITSUMORI, M.; KAJIKAWA, H. I.; AMINOV, R. Influence of high temperature and humidity on rumen bacterial diversity in Holstein heifers. **Anaerobe**, v. 13, n. 2, p. 57-64, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2006.12.001>.

WANG, J.; LI, J.; WANG, F.; XIAO, J.; WANG, Y.; YANG, H.; LI, S.; CAO, Z. Heat stress on calves and heifers: a review. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 11, article 79, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40104-020-00485-8>.

Preparação de nanoestruturas metálicas associadas a um peptídeo para a construção de biossensor

Gabriela Cristina Mendonça Calisto⁽¹⁾, Michelle Daiane de Almeida Loures⁽³⁾, Humberto de Mello Brandão⁽²⁾, Marcelo Porto Bemquerer^(2,4)

⁽¹⁾Graduanda em Licenciatura em Química – UFJF, Juiz de Fora, MG. e-mail: gabikalisto@gmail.com, ⁽²⁾Pesquisador Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, ⁽³⁾Analista Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, ⁽⁴⁾Orientador. E-mail: marcelo.bemquerer@embrapa.br

Resumo- As nanopartículas de ouro preparadas com peptídeos podem ser utilizadas como biossensores devido à estabilidade físico-química, funcionalidade ajustável e boa compatibilidade com analitos de origem biológica. O peptídeo escolhido para funcionalização das nanopartículas tem a seguinte sequência de resíduos de aminoácido: H-CVNITKQHTVTTTT-NH₂, no qual o resíduo de cisteína (C) faz a ligação do peptídeo ao ouro metálico e o resíduo de histidina (H) é o sítio principal de ligação de íons Cu²⁺. Variações da razão entre as concentrações de citrato e HAuCl₃ não se mostraram eficientes para controlar o tamanho das nanoestruturas. O agente redutor foi substituído pelo boridreto de sódio e as nanopartículas de ouro obtidas foram caracterizadas em todas as fases em relação ao raio hidrodinâmico, potencial zeta e índice de polidispersão em equipamento Zetasizer, por meio de medidas de espalhamento dinâmico de luz.

Termos para indexação: nanopartícula de ouro, peptídeo, cobre, boridreto de sódio.

Preparation of metallic nanostructures associated to a peptide for the construction of a biosensor

Abstract- Gold nanoparticles prepared with peptides can be used as biosensors due to their stable physicochemical priorities, adjustable functionality and good compatibility for biological analytes. The peptide chosen for functionalization of the nanoparticles has the following sequence of amino acid residues: H-CVNITKQHTVTTTT-NH₂, in which the cysteine (C) residues anchors the peptide onto the gold surface whereas the histidine (H) residue among other moieties of the peptide chain binds to Cu²⁺ metal ions. Variations in the ratio of citrate to HAuCl₃ concentrations did not give rise to controlled particle size. Thus, sodium borohydride was substituted for citrate as the reducing agent and the obtained nanoparticles was characterized by measurements of zeta potential, hydrodynamic radius, and polydispersion index in a Zetasizer equipment, which operates by dynamic light scattering.

Index terms: Gold nanoparticle, peptide, copper, sodium borohydride.

Introdução

As nanopartículas de ouro (AuNP) possuem aplicações como sensores devido à biocompatibilidade, à facilidade de obtenção, à possibilidade de controle de tamanho, formato e carga superficial e à utilização de métodos variados de detecção, como a espectroscopia de absorvância por mudanças na posição da banda plasmônica ou os métodos eletroquímicos que são sensíveis a mudanças no potencial de oxido-redução (Chen et al., 2008; Saha et al., al., 2012). As nanopartículas de ouro podem ser funcionalizadas diretamente com peptídeo por meio da ligação de resíduos de cisteína ou pela modificação do peptídeo com a inserção de um espaçador com grupo sulfidril (Egorova et al., 2020). A ligação de peptídeos a íons metálicos apresenta aspectos de especificidade e seletividade que a torna uma estratégia valiosa em aplicações biotecnológicas, como a construção de biossensores (Lévy et al., 2004). Devido ao tamanho pequeno, as AuNPs possuem uma grande área superficial, tendendo a aglomerar-se e, conseqüentemente, a perderem as suas propriedades únicas relacionadas ao tamanho, formas e distância interparticular (Daniel; Astruc, 2004).

Assim, métodos diferentes de sínteses de nanopartículas foram desenvolvidos para controlar o tamanho e a forma e promover sua estabilização. O método de Turkevich et al. (1951) é o mais amplamente utilizado, o qual consiste em reações de oxido-redução mediadas por citrato que atua ainda como estabilizante. Este método, apesar de ser experimentalmente simples e já possuir um mecanismo de reação proposto (Ojea-Jiménez et al., 2010), continua sendo investigado e sabe-se que o tamanho e a carga das nanoestruturas dependem da razão [citrato]/[HAuCl₃] e do pH controlado pelo citrato (Ji et al., 2007). Entretanto, diversos outros redutores podem ser utilizados, alguns dos quais são extratos biológicos peculiares. Gracie et al. (2022) reduziram sais de ouro em bebidas alcoólicas envelhecidas em barris e produziram AuNPs coloridas com propriedades distintas que podem refletir a qualidade da bebida. Nanodiscos de ouro foram sintetizados por um método bioquímico em solução aquosa utilizando extrato de barata (*Periplaneta americana*) como agente redutor (Cho et al., 2023). No outro extremo, um agente redutor clássico e amplamente utilizado em química orgânica e inorgânica é o boridreto de sódio, que pode ser usado para produzir nanoestruturas de ouro em temperatura ambiente (Dearaedt et al., 2014).

Este trabalho visa à obtenção de nanopartículas de ouro com tamanhos menores e mais controlados que as nanoestruturas obtidas na presença de citrato de sódio, utilizando-se o boridreto de sódio (NaBH₄) como agente redutor para melhor estabilização após funcionalização com o peptídeo, com expectativa de desenvolvimento de um biossensor para a determinação de íon metálico em alimentos.

Material e métodos

Neste projeto, nanopartículas de ouro foram sintetizadas por via aquosa, utilizando-se o boridreto de sódio como agente redutor, e preparadas com o peptídeo por automontagem, que é um método extremamente versátil e de custo relativamente baixo se comparado a outras metodologias de sínteses envolvendo nanoestruturas metálicas, podendo ser adaptado para produções em grande escala, ressaltando as nanopartículas de ouro, vastamente aplicadas (Xiaomin et al., 2022).

A preparação das soluções coloidais de nanopartículas de ouro (AuNP), desenvolvida no Laboratório de Inovação em Nanobiotecnologia e Materiais Avançados para Pecuária-LINMAP, da Embrapa Gado de Leite, foi conduzida com base em reações de óxido-redução, utilizando o boridreto de sódio (Dearaedt et al., 2014) ou o citrato de sódio (Turkevich et al., 1951) como agente redutor e estabilizante.

Inicialmente, foi feito um estudo de variação da razão molar entre citrato e HAuCl_3 . Foi preparada uma solução de estoque de citrato de sódio ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$, MM 258,1 g/mol) a 1% (p/v), correspondente a $3,9 \times 10^{-2}$ mol/L, sendo a concentração final de $5,7 \times 10^{-4}$ mol/L. A partir desta solução estoque de citrato de sódio, retirou-se uma alíquota (de acordo com a Tabela 1), que foi transferida para um erlenmeyer de 125 mL contendo 50 mL de água ultrapura Milli-Q mantida em aquecimento e agitação constante até a ebulição. Após 5 minutos em ebulição, foram adicionados 50 μL da solução de ácido cloroauríco (HAuCl_3) na concentração de $2,9 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹ (concentração final de $5,0 \times 10^{-5}$ mol/L). Após alguns minutos, a solução adquiriu uma coloração avermelhada, indicando a formação das AuNPs. As soluções coloidais foram sintetizadas testando-se cinco concentrações de citrato de sódio (Tabela 1), nas quais foram realizadas quatro repetições de sínteses de nanopartículas para avaliar a razão citrato/ouro.

Após o resfriamento da solução, esta foi submetida à diálise, onde se utilizou uma membrana de celulose regenerada com diâmetro médio de 34 mm, MWCO 3,5 kDa, durante dois dias, realizando-se a troca de água por três a quatro vezes.

Tabela 1. Variações da concentração de citrato de sódio e da razão entre citrato e HAuCl_3 .

Volume	Concentração	Razão [Citrato]/[HAuCl_3]
0,2 mL	$2,0 \times 10^{-4}$ mol.L ⁻¹	4
0,4 mL	$3,0 \times 10^{-4}$ mol.L ⁻¹	6
0,8 mL	$6,0 \times 10^{-4}$ mol.L ⁻¹	12
1,6 mL	$1,2 \times 10^{-3}$ mol.L ⁻¹	24
3,0 mL	$2,2 \times 10^{-3}$ mol.L ⁻¹	44

Para a síntese utilizando o boridreto de sódio como agente redutor, foi dissolvido 1,5 mg de ácido cloroauríco na concentração de $4,4 \times 10^{-6}$ mol.L⁻¹ em 32 mL de água ultrapura Milli-Q, que foi mantida sob agitação constante por 15 minutos em temperatura ambiente. Após a agitação por 15 minutos, 1,0 mL de uma solução de boridreto de sódio (1,5 mg de NaBH_4 , MM= 37,83 g/mol, $3,96 \times 10^{-2}$ mol/L) foi adicionado rapidamente sob a solução áurica, obtendo-se uma coloração avermelhada instantaneamente. A cor da solução e a ausência de aglomerados muito densos no fundo do recipiente mostraram que a partícula coloidal foi sintetizada com eficiência. O pH da solução coloidal foi variado utilizando-se uma solução de NaOH (1,0 mol/L), ajustando o pH de 4 para 10, quando foi possível observar a mudança da cor avermelhada para um azul escuro. Em seguida, foi preparado 1,0 mL de uma solução aquosa do peptídeo a $1,25 \times 10^{-3}$ mol/L (H-CVNITKQHTVTTTT-NH₂, MM= 1.547,0 g/mol, 20 mg) e aplicou-se uma alíquota de 20 μL sobre a suspensão coloidal de Au, que ficou em agitação por 10 minutos. A concentração final do peptídeo foi de $8,0 \times 10^{-7}$ mol/L. A solução foi submetida à diálise, utilizando-se uma membrana com diâmetro médio de 34 mm, MWCO 3,5 kDa, durante dois dias. Para a ligação do Cu^{2+} à nanoestrutura derivatizada com o peptídeo, a membrana contendo as nanopartículas de ouro ficou submersa em uma

solução de sulfato de cobre ($1,0 \times 10^{-3}$ mol/L; 160mg) realizando-se a troca de água por três a quatro vezes. Este procedimento foi repetido com a substituição do CuSO_4 pelo MgSO_4 .

Resultados e discussão

Em etapas anteriores deste projeto, verificou-se que foi possível estabilizar as nanoestruturas de ouro obtidas com o citrato como agente redutor, mas havia uma variação significativa de tamanho e carga superficial das nanoestruturas obtidas na mesma condição experimental. Foi feito então um experimento de variação sistemática da razão [citrato]/ $[\text{HAuCl}_3]$ para verificar se o aumento desta razão levaria, de fato, a uma diminuição da dimensão das nanoestruturas (Ji et al., 2007). Na Tabela 2 pode ser observada uma tendência do aumento do raio hidrodinâmico das AuNPs funcionalizadas com o aumento da razão entre citrato e HAuCl_3 , mas com grande dispersão. Observamos ainda uma variação significativa dos raios hidrodinâmicos na mesma condição experimental, sugerindo que pequenas variações na temperatura próxima à ebulição podem afetar significativamente a qualidade das nanoestruturas obtidas. Como o objetivo era o de obter de forma reprodutiva tamanhos menores de nanopartículas, que são comumente melhor estabilizadas após a ligação do peptídeo, foi decidida a substituição do agente redutor por NaBH_4 .

Tabela 2 . Raios hidrodinâmicos das AuNPs

Razão molar [citrato]/ $[\text{HAuCl}_3]$ Repetições	4	6	12	24	44
1	29,90	34,12	38,51	44,11	65,23
2	40,02	27,83	40,30	36,66	64,64
3	40,44	23,88	37,23	107,1	65,25
4	63,47	41,12	35,04	135,2	157,7

Observou-se que as AuNPs reduzidas por boridreto de sódio apresentaram controle de tamanho e estabilidade maiores se comparadas com as AuNPs obtidas pelo método de óxido-redução por citrato de sódio variando-se a concentração do sal. O potencial zeta (PZ), o índice de polidispersão (PDI) e o tamanho das nanoestruturas de ouro (raio hidrodinâmico) foram obtidos por espalhamento dinâmico de luz (DLS) a 25°C . Para as sínteses conduzidas com o boridreto de sódio como agente redutor, como mostrado na Tabela 3, ocorre um aumento progressivo do raio hidrodinâmico das AuNPs funcionalizadas com peptídeo e em solução de sulfato de cobre se comparadas com as AuNPs com NaBH_4 . Este efeito é justificado pelo acoplamento dos peptídeos e ligação de íons metálicos. As nanopartículas sintetizadas com boridreto de sódio possuem estabilidade elevada, pouca ou nenhuma agregação, apresentando o valor médio de carga superficial de $-36,4$ mV. O valor de PZ diminuiu devido à interação com o peptídeo que possui cargas positivas no grupo amina na cadeia lateral de lisina (K) e no grupamento histidina (H). Porém, o valor do potencial zeta torna-se novamente mais negativo após a adição da solução de CuSO_4 , provavelmente pela presença de íons SO_4^{2-} . Os índices de polidispersividade são considerados aceitáveis, mostrando uma uniformidade na distribuição dos tamanhos, com valores de PDI de 0,2 a 0,4 (Casanova, 2010). As AuNPs em solução de CuSO_4 agregaram durante a diálise. Os íons Cu^{2+} e SO_4^{2-} formam uma ponte entre duas partículas e criam uma força atrativa intermolecular, agregando-as. Esse fato explica o valor de PDI ser maior se comparado com as outras sínteses (Chen et al., 2008). Na presença de MgSO_4 , as nanoestruturas de ouro derivatizadas com o peptídeo também apresentaram carga

superficial mais negativa que antes da adição do sal inorgânico, evidenciando, novamente, que os íons SO_4^{2-} parecem ter um efeito pronunciado na nanoestrutura (Tabela 3). Apesar da carga negativa das nanoestruturas ter sido menor que -25 mV na presença de CuSO_4 e MgSO_4 , o que indicaria a estabilidade coloidal (Lu; Kessler, 2006), estas partículas apresentaram agregação pronunciada durante a diálise. Portanto, para que o biossensor possa ser aplicado para a detecção de cobre é necessário conduzir estudos com outros sais como o CuCl_2 e o CuBr_2 .

Tabela 3. Índice de polidispersão (PDI), potencial zeta e raio hidrodinâmico das nanopartículas de ouro. Um valor representativo de medição é mostrado juntamente com o seu PDI.

Nanopartículas	PDI	Potencial Zeta (mV)	Raio Hidrodinâmico
AuNP com NaBH_4	0,271	-36,4	55,0
AuNP com peptídeo	0,238	-14,1	159,8
AuNP em Cu^{2+}	0,351	-39,7	230,5
AuNP em Mg^{2+}	0,417	-21,4	161,9

Conclusões

Concluiu-se que foi possível a síntese das nanoestruturas de ouro preparadas com peptídeos por meio de técnicas simples, controlando o tamanho e forma. Entretanto, ainda é necessária a utilização de outras abordagens com os fatores que favoreçam de forma efetiva a detecção do íon Cu^{2+} , requerendo estabilidade coloidal e resistência a interações iônicas.

Agradecimentos

Ao pesquisador Marcelo Bemquerer pela orientação na iniciação científica. À Embrapa pela elevada qualidade do treinamento. Ao CNPq pelo suporte financeiro.

Referências

- ANOVA, M. C. R. **Síntese, caracterização e estudo da estabilidade de nanopartículas metálicas estabilizadas com polieletrólitos e tióis**. 2010. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Carlos.
- CHO, J. L.; LIU, S.; WANG, P. Green chemical synthesis of size-controlled gold nanodisk governed by hydrophilic protein/peptide-rich aqueous extract from american cockroach, *Periplaneta americana*. **BioNanoScience**, v. 13, p. 167-175, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12668-022-01049-y>.
- CHEN, H.; KOU, X.; YANG, Z.; NI, W.; WANG, J. Shape and size dependent refractive index sensitivity of gold nanoparticles. **Langmuir**, v. 24, n. 10, p. 5233-5237, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1021/la800305j>.
- DANIEL, M.-C.; ASTRUC, D. Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. **Chemical Reviews**, v. 104, n. 1, p. 293-346, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1021/cr030698+>.
- EGOROVA, E. A.; VAN RIJT, M. M. J.; SOMMERDIJK, N.; GOORIS, G. S.; BOUWSTRA, J. A.; BOYLE, A. L.; KROS, A. One peptide for them all: gold nanoparticles of different sizes are stabilized by a common peptide amphiphile. **ACS Nano**, v. 14, n. 5, p. 5874-5886, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c01021>.
- DEARAEDT, C.; SALMON, L.; GATARD, S.; CIGANDA, R.; HERNANDEZ, R.; RUIZ, J.; ASTRUC, D. Sodium borohydride stabilizes very active gold nanoparticle catalysts. **Chemical Communications**, v. 50, n. 91, p. 14194-14196, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1039/c4cc05946h>.

GRACIE, J.; ZAMBERLAN, F.; ANDREWS, I. B.; SMITH, B. O.; PEVELER, W. J. Growth of plasmonic nanoparticles for aging cask-matured whisky. **ACS Applied Nano Materials**, v. 5, n. 10, p. 15362-15368, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsanm.2c03406>.

JI, X.; SONG, X.; LI, J.; BAI, Y.; YANG, W.; PENG, X. Size control of gold nanocrystals in citrate reduction: the third role of citrate. **Journal of the American Chemical Society**, v. 129, n. 45, p. 13939-13948, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja074447k>.

LÉVY, R.; THANH, N. T. K.; DOTY, R. C.; HUSSAIN, I.; NICHOLS, R. J.; SCHIFFRIN, D. J.; BRUST, M.; FERNIG, D. G. Rational and combinatorial design of peptide capping ligands for gold nanoparticles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 32, p. 10076-10084, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja0487269>.

LU, K.; KESSLER, C. Colloidal dispersion and rheology study of nanoparticles. **Journal of Materials Science**, v. 41, n. 17, p. 5613-5618, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10853-006-0303-5>.

OJEA-JIMÉNEZ, I.; ROMERO, F. M.; BASTÚS, N. G.; PUNTES, V. Small gold nanoparticles synthesized with sodium citrate and heavy water: Insights into the reaction mechanism. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 114, n. 4, p. 1800-1804, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp9091305>.

SAHA, K.; AGASTI, S. S.; KIM, C.; LI, X.; ROTELLO, V. M. Gold nanoparticles in chemical and biological sensing. **Chemical Reviews**, v. 112, n. 5, p. 27393-2779, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1021/cr2001178>.

TURKEVICH, J.; STEVENSON, P. C.; HILLIER, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. **Discussions of the Faraday Society**, v. 11, p. 55-75, 1951.

XIAOMIN, X.; YANG, L.; YUJIE, Y.; JINGJING, W.; MEIWEN, C.; LI, S. One-pot synthesis of functional peptide-modified gold nanoparticles for gene delivery. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 640, article 128491, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.128491>.

Produção de queijo artesanal em Alagoa: uma análise exploratória com Power BI

Gabriela Paschoal da Silva⁽¹⁾, Glauco Rodrigues Carvalho^(2,5), Fábio Homero Diniz⁽³⁾, Maria de Fátima Ávila Pires⁽⁴⁾

⁽¹⁾Graduanda em Estatística – UFJF, Juiz de Fora, MG. E-mail: gabrielabjn@gmail.com, ⁽²⁾Pesquisador da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. E-mail: glauco.carvalho@embrapa.br, ⁽³⁾Analista da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, ⁽⁴⁾Pesquisadora da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. maria.pires@embrapa.br, ⁽⁵⁾Orientador

Resumo- A agregação de valor ao leite por meio da produção de queijos artesanais tem ganhado importância nos últimos anos. No estado de Minas Gerais, em especial, há uma extensa variedade de tipos e origens. O município de Alagoa (MG) é um bom exemplo deste mercado, em que pequenos produtores de leite agregam valor produzindo queijo artesanal e veem seu negócio em crescimento. Diante desse cenário e considerando o baixo volume de informações disponíveis, procurou-se fazer um levantamento sobre a cadeia agroindustrial do queijo de Alagoa, especificamente nos temas “canais de comercialização e mercados” da região, “condições de infraestrutura”, “processamento” e “expectativas”. O objetivo da pesquisa foi caracterizar a cadeia agroindustrial do queijo artesanal de Alagoa. Foram aplicados 17 questionários, tendo sido possível organizar os dados obtidos e torná-los apresentáveis a quem possa se interessar via o uso de ferramentas (softwares) de análise exploratória. Espera-se que estes resultados auxiliem na visualização e na compreensão do cenário da fabricação de queijo artesanal em Alagoa como um todo, viabilizando assim o surgimento de futuras pesquisas e políticas públicas que contribuam para o desenvolvimento socioeconômico da região.

Termos para indexação: Alagoa, análise exploratória de dados, indústria leiteira, Minas Gerais, power bi, queijo artesanal.

Craft Cheese Manufacturing in Alagoa: An Exploratory Data Analysis with Power BI

Abstract- The aggregation of value of milk via craft cheese manufacturing has gained relevance in the last years. In Minas Gerais (Brazilian federal state) for instance, there is an extensive variety of kinds and origins. Alagoa city is a good example of this market, in which small milk producers aggregate value in craft cheese and see their businesses in expansion. Given this scenario and considering the low volume of data available, a survey about the agro-industrial chain of Alagoa cheese was done - specifically about the subjects “commercialization channels and markets”, “infrastructure conditions”, “processing” and “expectations”. The aim of the research was characterizing agro-industrial chain of Alagoa craft cheese. For that, 17 questionnaires were applied, what made possible organizing obtained data and making them presentable to whoever may be interested via data analysis tools (softwares). It is expected that these results help in the visualization and comprehension of craft cheese manufacturing in Alagoa as a whole, enabling the rise of future researches

and public policies, which may contribute to this region's social and economic development.

Index terms: Alagoa, craft cheese, exploratory data analysis, milk industry, Minas Gerais, power bi.

Introdução

Levantamentos da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais (Emater-MG) revelam a existência de aproximadamente 30 mil produtores de queijo artesanal no estado. Nesse contexto, destaca-se o território inserido no Corredor Ecológico da Mantiqueira, que abrange 42 municípios mineiros e onde a produção de leite e a fabricação de queijo são predominantes entre as atividades praticadas por pequenos agricultores familiares (Siqueira, 2011). Nesses municípios, em especial a cidade de Alagoa, a fabricação de queijos é mais que uma atividade: é parte intrínseca da história e cultura da população (Siqueira, 2011). Segundo pesquisa da Emater-MG, apenas em 2019 foram contabilizadas 139 queijarias artesanais e uma produção de 58 mil toneladas de queijo nessa pequena cidade de 2.749 habitantes (IBGE, 2023). Em 2020, Alagoa enfim recebeu o reconhecimento pelo governo de Minas Gerais como região produtora de queijo artesanal (portarias nº 1.985 e 1.986). No entanto, informações relativas aos canais de comercialização e distribuição existentes, condições de infraestrutura e expectativas futuras dos produtores (por exemplo) ainda são escassas.

Em 2023, pesquisadores da Embrapa Gado de Leite que estudam a produção de queijo artesanal no município de Alagoa aplicaram um questionário em um grupo de pequenos pecuaristas envolvidos nessa atividade; esse ato teve por intuito compreender melhor o cenário no qual estão inseridos e viabilizar projetos envolvendo o município. Nesse sentido, após a etapa de coleta dos dados, fez-se necessário o registro, o tratamento e a análise exploratória - afinal, como disse John Tukey: "A análise exploratória de dados nunca será toda a história, mas nada mais pode servir como pedra basal" (Tukey, 1977). Tal importância atribuída se deve ao fato desse método nos permitir resumir, investigar, descobrir padrões e anomalias nos dados, averiguar a relação entre variáveis e verificar hipóteses (IBM, 2023); e tudo isso pode ser facilitado pelo uso de ferramentas (softwares) de visualização de dados.

Assim, o objetivo deste trabalho consiste em apresentar (de forma visual, por meio de gráficos, infográficos e figuras) dados referentes à produção de queijo artesanal em Alagoa de maneira clara e acessível. Espera-se que isso contribua para o melhor entendimento das dinâmicas laborais estabelecidas em Alagoa, bem como do perfil dos produtores, dos mercados e canais de distribuição existentes, condições de infraestrutura, rendimento médio da produção, expectativas futuras, dentre outras informações; espera-se que esse entendimento viabilize pesquisas e projetos (atuais e futuros) direcionados a produtores do município, dessa forma promovendo melhorias e contribuindo para o desenvolvimento socioeconômico da região. Os resultados expostos a seguir vão ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, contribuindo para o alcance dos seguintes objetivos específicos: ODS 2 - Erradicação da fome: acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável; ODS 8 - Empregos dignos e crescimento econômico: promover o crescimento econômico

sustentado, inclusivo e sustentável, emprego pleno e produtivo, e trabalho decente para todos; ODS 9 - Construir infraestruturas resilientes, promover a industrialização inclusiva e sustentável e fomentar a inovação; ODS 12 - Consumo Responsável: Assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis.

Material e métodos

Atualmente, existem diversas ferramentas de visualização de dados disponíveis online. Nesse contexto, uma das que mais se destacam é o Power BI, software desenvolvido pela empresa Microsoft e lançado em 2015, o qual foi elencado pela Forbes como o melhor para visualização de dados em 2023 (Haan; Watts, 2023) e não por acaso, foi escolhido como ferramenta para a realização deste trabalho.

Para o levantamento de dados, foi elaborado um questionário para avaliar a cadeia agroindustrial do queijo de Alagoa e questões relacionadas à propriedade/agroindústria. Além disso, foram levantadas informações sobre a origem do leite, processamento, mercado e comercialização, concorrência e expectativas dos produtores. Após a aplicação dos questionários ocorreram as etapas de registro, tratamento e apresentação, conforme detalhamento a seguir.

A primeira fase consistiu no registro dos dados obtidos via questionário em planilha do Excel. O questionário consistia em sete tópicos (cada qual com seu próprio conjunto de perguntas), são eles:

1. Identificação do Produtor/Entrevistado;
2. Identificação da Propriedade;
3. Origem do Leite;
4. Processamento;
5. Mercado e Comercialização;
6. Marketing e Concorrência;
7. Expectativas Futuras.

Dessa forma, a planilha foi dividida em colunas (tópicos) e subcolunas (perguntas). Algumas das perguntas eram abertas, outras eram fechadas ou de múltipla escolha. Adotou-se a abordagem de preencher com um “x” as subcolunas-respostas de cada produtor.

Em seguida, a planilha foi importada para o Power BI via Power Query, um mecanismo de transformação e preparação de dados “embutido” no Power BI, onde foi realizado o tratamento dos dados. Algumas transformações necessárias foram: atribuição do número 1 aos “x” em cada subcoluna de múltipla escolha (o número 0 era atribuído à ausência de marcações); criação de novas fórmulas e registro de seus resultados para apresentação no *dashboard*; substituição dos valores “nulos” (O Power Query atribui *null* a dados faltantes) por 0. Então, foi realizada a plotagem dos gráficos conforme a necessidade e a adequação.

Criar um *dashboard* para análise de dados pode ser uma atividade bem subjetiva, na qual a criatividade e a capacidade analítica se tornam grandes diferenciais para a efetividade e inovação do trabalho. Além disso, deve-se ter um bom conhecimento em estatística para evitar representações que levem o observador a ter raciocínios ou interpretações equivocadas. Por exemplo: deve-se fazer o devido tratamento de *outliers*, considerar que correlação não implica em causalidade, evitar gráficos de pizza para mais de 2 variáveis (uma vez que a capacidade humana de interpretação de áreas não costuma ser boa),

entre outros. Todas essas considerações foram feitas neste trabalho. Ainda, o *dashboard* contou com quatro páginas (ou seções), de acordo com o (s) tópico (s) abordado (s): Perfil, Processamento, Mercado e Expectativas Futuras.

Resultados e discussão

Os principais resultados do tópico 1, Perfil dos Produtores, encontram-se na Figura 1. No geral, o “perfil” encontrado para o produtor de Alagoa foi o seguinte: dono (a) do próprio negócio familiar, tendo iniciado suas atividades na pecuária leiteira em 1999 e na produção de queijo em 2002. Trabalha com leite obtido em sua propriedade, com média de 378 L/dia (e 237 L/dia no período da seca). Mais da metade (59%) é submetido à inspeção municipal, enquanto o restante não é inspecionado. Realizam controle de qualidade ou controle financeiro ou aquele preconizado pelo SENAR – Serviço Nacional de Aprendizagem Rural.

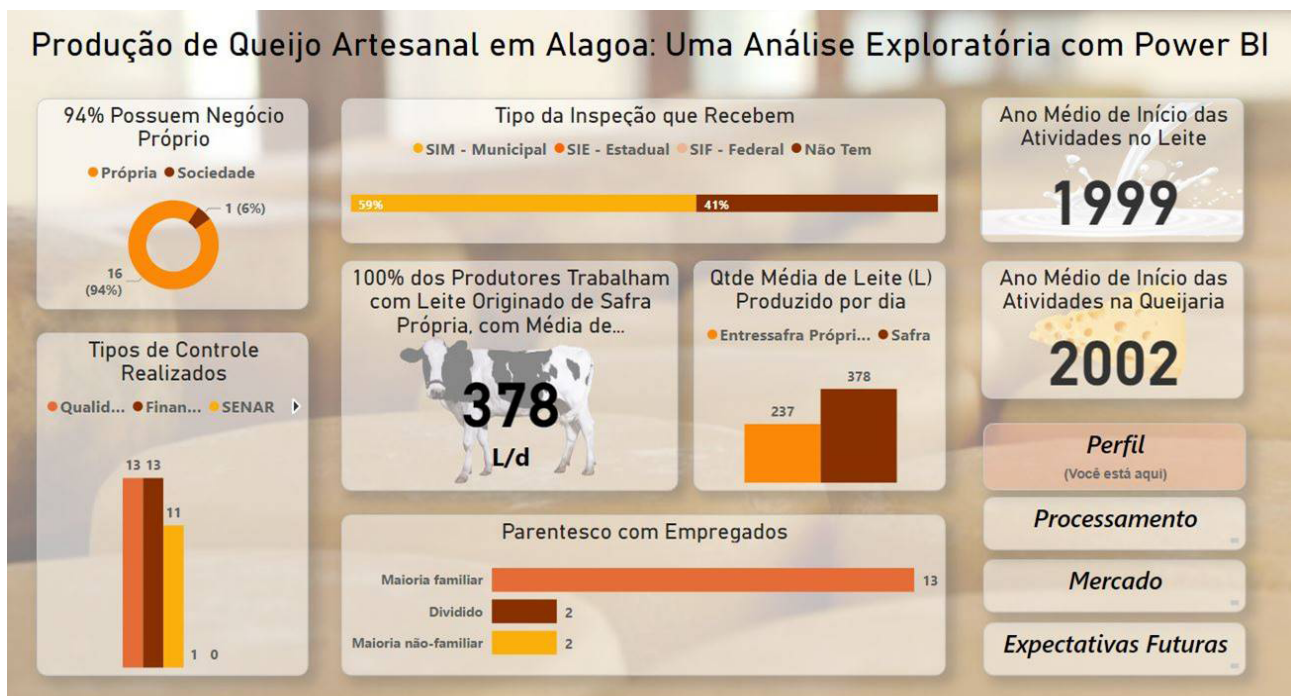


Figura 1. Dashboard da Produção de Queijo Artesanal em Alagoa: Perfil dos produtores.

Em seguida, na Figura 2, seção “Processamento”, verificou-se que o produtor alagoense médio possui rendimento da produção de queijo de 28 L/kg, processamento de 262 L/dia e com capacidade de processar até 600 L/dia; no entanto, um dado extremo (outlier) foi desconsiderado no cálculo dessa média e na montagem do *boxplot*. Em relação às condições dos equipamentos utilizados, esta ficou dividida entre novos e meia vida, revelando, novamente, o caráter atual dos empreendimentos. Também se observou que quase 60% dos pecuaristas estão com sua produção em crescimento, o que pode indicar que o negócio está sendo rentável.

A próxima página do *dashboard* aborda o tópico “Mercado” (Figura 3). A partir dela, constata-se que mais de 80% dos produtores entrevistados percebem a demanda como crescente; vendem principalmente para os mercados estaduais e municipais e a maior parte desses considera fácil o acesso aos canais de distribuição. Além disso, 70% afirmaram que os faturamentos provenientes da comercialização de queijo artesanal são sua principal fonte de renda, confirmando o caráter de subsistência da atividade, como geralmente ocorre com pequenos produtores artesanais e familiares. Por fim, 100% dos entrevistados confirmaram

ter sua própria marca no queijo; 76% disseram divulgar seus produtos, dos quais 80% revelaram utilizar a internet como principal meio de divulgação.

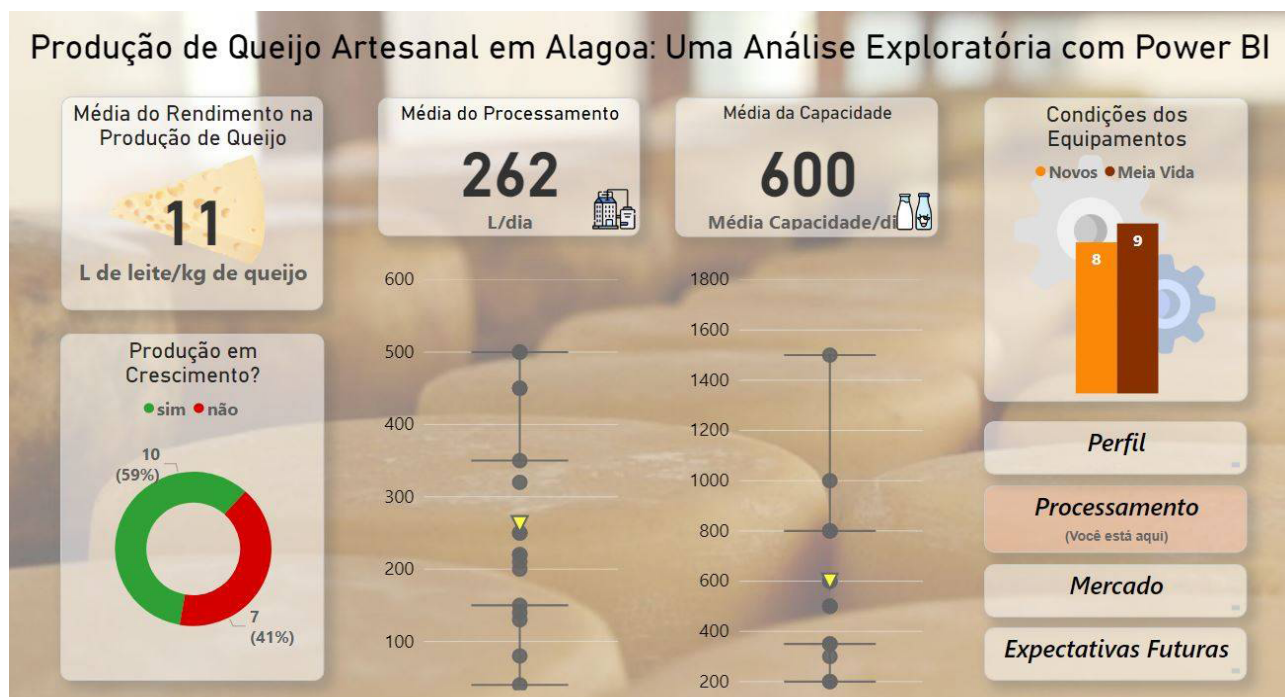


Figura 2. Dashboard da Produção de Queijo Artesanal em Alagoa: Processamento.



Figura 3. Dashboard da Produção de Queijo Artesanal em Alagoa: Mercado.

A última página de nosso dashboard é sobre o tópico “Expectativas Futuras” (Figura 4). Nele, pode-se observar que metade dos produtores tem intenção de investir na produção de leite nos próximos cinco anos, enquanto a outra metade prioriza o investimento na produção de queijo. Além disso, outros investimentos intencionados se dividem entre benfeitorias, animais e, principalmente, maquinário, sendo que 76% dos produtores dariam prioridade para as benfeitorias caso tivessem disponibilidade de crédito, revelando, possivelmente, a precariedade de infraestrutura. Finalmente, mais de 70% dos entrevistados possuem expectativas positivas em relação ao futuro: percebem como sendo crescente a projeção do mercado.

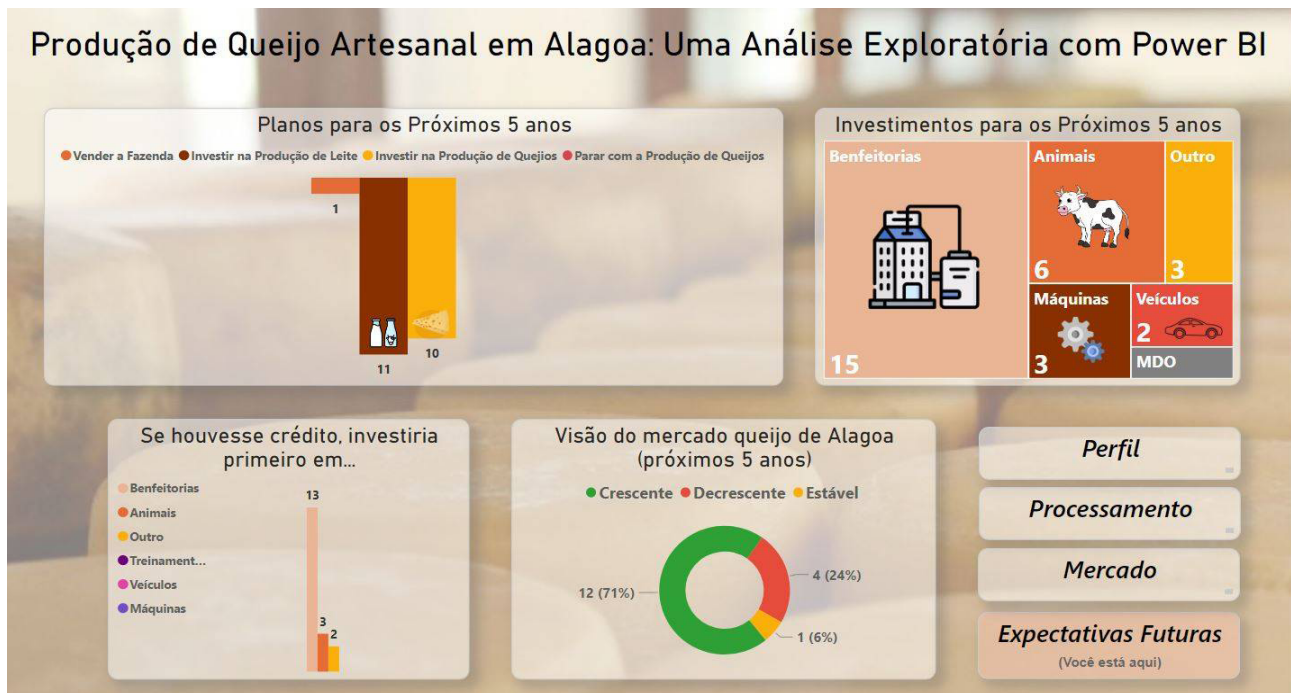


Figura 4. Dashboard da Produção de Queijo Artesanal em Alagoa: Expectativas Futuras.

Conclusões

Com base nos dados obtidos e nas informações geradas, foi possível traçar um panorama inicial e geral a respeito da cadeia agroindustrial do queijo artesanal de Alagoa, mapeando características como: perfil dos produtores e da atividade, quantidade de leite e queijo processados, condições de infraestrutura e canais de comercialização existentes, além de expectativas futuras em relação ao negócio e ao mercado. Com isso, confirmaram-se algumas das principais características já esperadas: o caráter atual, familiar e de subsistência das atividades; a tendência de crescimento; a utilização da internet como principal meio de divulgação. Além da predileção pelo investimento em benfeitorias, possivelmente indicando a necessidade de melhorias na infraestrutura, e do otimismo em relação ao futuro da produção e das atividades.

Agradecimentos

Agradecimentos à Embrapa Gado de Leite, à Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Referências

HAAN, K.; WATTS, R. **The best data visualization tools for 2023**. Disponível em: <https://www.forbes.com/advisor/business/software/best-data-visualization-tools/>. Acesso em: 22 ago. 2023.

IBGE. **Censo Demográfico 2022**: resultados preliminares. Rio de Janeiro, 2023.

IBM. **What is exploratory data analysis?** Disponível em: [https://www.ibm.com/topics/exploratory-data-analysis#:~:text=Exploratory%20data%20analysis%20\(EDA\)%20is,often%20employing%20data%20visualization%20methods](https://www.ibm.com/topics/exploratory-data-analysis#:~:text=Exploratory%20data%20analysis%20(EDA)%20is,often%20employing%20data%20visualization%20methods). Acesso em: 22 ago. 2023.

SIQUEIRA, R. L. de. Queijo parmesão de Alagoa: tradição e associativismo como alicerces da economia. In: **PARTICIPAÇÃO social, associativismo e desenvolvimento local. Aiuruoca**: Fundação Matutu, 2011. p. 38-39. (Cadernos da Serra do Papagaio, 3).

TUKEY, J. W. **Exploratory data analysis**. Reading: Addison-Wesley, 1977. 506 p.

Resistência à *Deois schach* (Fabricius, 1787) em genótipos melhorados de *Urochloa ruziziensis*¹

Milena Duarte⁽²⁾, Alexander Machado Auad⁽³⁾, Tiago Teixeira Rezende⁽⁴⁾, Bruno Antônio Veríssimo⁽⁵⁾, Fausto Souza Sobrinho⁽³⁾

⁽¹⁾O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil,

⁽²⁾Graduando em Ciências Biológicas – UniAcademia, Juiz de Fora, MG. Bolsista CNPq. e-mail: milenaduartejf@hotmail.com, ⁽³⁾ Pesquisadores, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. e-mails: alexander.auad@embrapa.br, fausto.sousa@embrapa.br, ⁽⁴⁾Técnico, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. e-mail: tiago.resende@embrapa.br, ⁽⁵⁾Doutorando em Biodiversidade e Conservação da Natureza, UFJF, Juiz de Fora, MG.

Resumo- O objetivo desse estudo foi avaliar genótipos melhorados de *Urochloa ruziziensis* quanto a resistência à *Deois schach*. Adotou-se o delineamento de blocos casualizados com 231 genótipos de *U. ruziziensis* com cinco repetições, além dos grupos controle. Cada tubete contendo uma planta e infestado com seis ovos de *D. schach*, próximos à eclosão, foi vedado e após 40 dias realizou-se a contagem de ninfas do inseto-praga sobreviventes. Houve diferença significativa na sobrevivência média ninfal de *D. schach* nos diferentes genótipos de *U. ruziziensis*, variando de 0% a 87%. Os genótipos que obtiveram valores inferiores a 30%, que representaram 55,9% do total daqueles testados, confirmam a eficácia da seleção para resistência às cigarrinhas após ciclos sucessivos de melhoramento.

Termos para indexação: *Brachiaria ruziziensis*, cigarrinha das pastagens, forrageira, sobrevivência ninfal.

Resistance to *Deois schach* (Fabricius, 1787) in improved genotypes of *Urochloa ruziziensis*

Abstract- The objective of this study was to evaluate improved genotypes of *Urochloa ruziziensis* for resistance to *Deois schach*. A randomized block design was adopted with 231 genotypes of *U. ruziziensis* with 5 replications, in addition to the control groups. Each plant infested with 6 eggs, close to the hatching of *D. schach*, and after 40 days the number of survival nymphs was evaluated. There was significant difference in the mean nymphal survival of *D. schach* in the different genotypes of *U. ruziziensis*, ranging from 0% to 87%. The genotypes that obtained values lower than 30%, which represented 55.9% of the total of those tested, confirm the effectiveness of selection for spittlebug resistance after successive breeding cycles.

Index terms: *Brachiaria ruziziensis*, spittlebug, forage, nymphal survival.

Introdução

A espécie *Urochloa ruziziensis* (sin. *Brachiaria ruziziensis*) é uma forrageira de ampla utilização no Brasil por ter boa qualidade nutricional e por sua aceitação pelo gado (Resende et al., 2015). É a única espécie do gênero que se pode realizar cruzamentos de forma ampla, por ser diploide e se multiplicar de forma sexuada, o que acarreta maior variabilidade genética a ser explorada na seleção de plantas quanto à resistência às cigarrinhas das pastagens (Souza Sobrinho et al., 2009).

As principais injúrias provocadas pelo ataque de *Deois schach* (Fabricius, 1787) (Hemiptera: Cercopidae) são folhas secas resultantes da injeção de toxinas no ato de alimentação do inseto adulto (Garcia et al., 2006; Barbosa et al., 2011), redução na palatabilidade (Souza, 2007) e na produtividade da forrageira (Valério, 2009). Uma forma eficaz e econômica de controle desse inseto praga é a recomendação de forrageiras resistentes. Com isso, o programa de melhoramento de forrageiras da Embrapa Gado de Leite tem pesquisado e relatado variabilidade em genótipos de *U. ruziziensis* contra o ataque das cigarrinhas das pastagens.

Neste contexto, o objetivo dessa pesquisa foi dar continuidade as avaliações da resistência de genótipos *U. ruziziensis*, selecionados e advindos de cruzamentos anteriores, quanto a resistência à *D. schach*. Diante dos resultados apresentados a seguir, esta publicação vai ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, contribuindo para o alcance dos seguintes objetivos específicos: ODS 2: “Acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável”; ODS 12: “Assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis”; ODS 15: “Proteger, recuperar e promover o uso sustentável dos ecossistemas terrestres, gerir de forma sustentável as florestas, combater a desertificação, deter e reverter a degradação da terra e deter a perda de biodiversidade.

Material e métodos

Adultos de *D. schach* foram coletados no campo experimental da Embrapa Gado de Leite, em Coronel Pacheco, MG, e levados para o Laboratório de Entomologia em Juiz de Fora, MG. Esses foram acondicionados em uma gaiola de acrílico (30 x 55 x 30 cm) com uma planta de *U. decumbens* (25 cm de altura). Na parte basal da gaiola e na base da planta colocou-se gaze hidrófila umedecida, a qual serviu de substrato para oviposição da cigarrinha das pastagens. Para extração dos ovos, após sete dias, as gazes foram submetidas à um jato d'água, e os ovos obtidos colocados em placa de Petri, sendo essas mantidas em câmaras climatizadas do tipo Fitotron a $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$, até os ovos alcançarem o estágio S4 (perto da eclosão).

Utilizou-se delineamento experimental em blocos inteiramente casualizados, com cinco repetições, sendo a parcela composta por uma planta/tubete. Foram avaliados 231 genótipos, totalizando 1.155 plantas de *U. ruziziensis*, além das testemunhas *U. brizantha* cv. Marandu, *U. decumbens* cv. Basilisk, *U. ruziziensis* cvs. Kennedy e BRS Integra. Em cada tubete foram inseridos seis ovos de *D. schach* na fase S4, próximos à raiz das plantas. Tanto na parte inferior quanto na superfície dos tubetes, foram colocadas barreiras (espumas) para que as ninfas da cigarrinha das pastagens fossem mantidas nas plantas.

As plantas foram mantidas em casa de vegetação e, após 40 dias, avaliou-se o número de ninfas de terceiro e quarto instares sobreviventes, nos diferentes genótipos avaliados.

Os dados foram submetidos a análise de variância (Anova) e as médias comparadas pelo teste de Sott & Knott ($P < 0,05$). Foram mostrados graficamente os agrupamentos estatísticos, e os genótipos que obtiveram a mesma sobrevivência ninfal foram divididos em 24 subgrupos.

Resultados e discussão

A sobrevivência ninfal de *D. schach* variou significativamente ($P = 0,001$ e $F = 3,066$) em função dos genótipos de *U. ruzizensis* testados, com variação de 0 a 87%. Isto confirma que ainda há variabilidade genética para a resistência a esse inseto praga, apesar de serem materiais advindos de seleção daqueles com menor sobrevivência ninfal no programa de melhoramento da Embrapa Gado de Leite de 2008 a 2022. O grande número de genótipos com porcentagens de sobrevivência do inseto abaixo de 30% evidencia que a frequência de alelos favoráveis dentro da população tem aumentado gradativamente ao longo dos ciclos de melhoramento, reforçando a eficiência do programa.

O teste estatístico, referente às médias de sobrevivência ninfal de *D. schach*, separou os genótipos em três agrupamentos (Figura 1). O primeiro agrupamento, representado por aqueles que proporcionaram maior sobrevivência ninfal (62 a 87%) de *D. schach*, foi composto por 13,4% dos genótipos testados. No segundo agrupamento estatístico foram alocados 30,7% dos genótipos testados, com a sobrevivência ninfal variando de 36,7 a 60%, além das testemunhas consideradas suscetíveis. Já o terceiro agrupamento estatístico acomodou a maior parte dos genótipos testados (55,9%), confirmando a eficiência da seleção ao longo dos ciclos de melhoramento, aumentando a frequência de alelos responsáveis pela menor sobrevivência dos insetos nas plantas de *U. ruzizensis* ao longo do processo. Dessa forma, fica mais fácil identificar genótipos com baixos níveis de sobrevivência de ninfas de cigarrinhas das pastagens na população melhorada. A cv. Marandu (*U. brizantha*), utilizada como testemunha resistente, também foi incluída neste agrupamento.

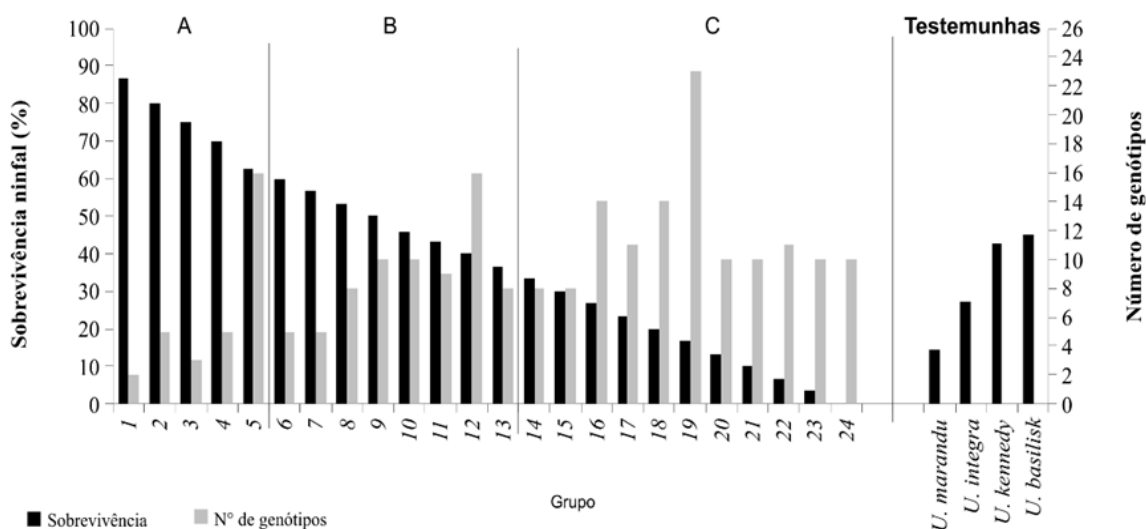


Figura 1. Sobrevivência ninfal média (%) de *D. schach* em genótipos de *U. ruzizensis*. Os genótipos com médias de sobrevivência iguais foram reunidos, formando 24 subgrupos. Os subgrupos de 1 a 5, com médias variando de 62 a 87% de sobrevivência ninfal, pertencem ao primeiro agrupamento estatístico; subgrupos de 6 a 13 formaram o segundo agrupamento estatístico, com médias variando de 36,67 a 60%, e o terceiro agrupamento estatístico foi composto pelos subgrupos 14 a 24, com as menores médias de sobrevivência das cigarrinhas, sempre inferiores à 33%.

Segundo Cardona et al. (1999), plantas do gênero *Urochloa* (*sin. Brachiaria*) são consideradas resistentes quando apresentam sobrevivência ninfal das cigarrinhas das pastagens inferior a 30%. Como as médias do terceiro agrupamento variaram de 33,3 a 0% de sobrevivência ninfal, todos os genótipos alocados dentro desse agrupamento são considerados promissores e deverão seguir no programa de melhoramento de braquiária visando à resistência a *D. schach*.

Em etapas anteriores do programa de melhoramento somente 7,2% dos genótipos de *U. ruziziensis* avaliados foram promissores quanto a resistência a *M. spectabilis* (Aquad et al., 2014) e 19,6% a *Deois schach* (Aquad et al., 2015). Ressalta-se que essas plantas foram advindas do primeiro e segundo ciclo de cruzamentos do programa de melhoramento. Evidencia-se então, ganhos consideráveis, pois na presente pesquisa identificou-se 55,9% de plantas desfavoráveis ao desenvolvimento das ninfas de *D. schach*, reforçando a eficiência do programa de melhoramento, visto que o genótipo testado advém de ciclos sucessivos de avaliação e seleção dos melhores materiais, sendo a resistência aos insetos uma das características consideradas.

Conclusões

Com ciclos sucessivos de seleção e intercruzamentos de genótipos superiores quanto à característica de resistência a *D. schach*, a presente pesquisa evidenciou alta porcentagem de plantas (56%) com fenótipo desfavorável à sobrevivência desse inseto-praga, que estarão disponíveis para avançar no programa de melhoramento de forrageiras.

Agradecimentos

À Embrapa Gado de Leite pela oportunidade de estágio e de aprendizado, ao CNPq pelo suporte financeiro à execução da pesquisa e pela concessão da bolsa de iniciação científica.

Referências

AQUAD, A. M.; SOBRINHO, F. S.; RESENDE, T. T. de; LUCINDO, T. de S.; TOLEDO, A. M. O. Seleção de *Brachiaria ruziziensis* tetráploides resistentes à *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae). In: SEMANA DE BIOLOGIA, 37., 2014, Juiz de Fora. **Agricultura familiar: cultivando o futuro, promovendo a preservação**: anais. Juiz de Fora: Universidade Federal de Juiz de Fora, 2014.

AQUAD, A. M.; SOBRINHO, F. S.; FONSECA, M. das G.; RESENDE, T. T. de; PARCHEN, H. A.; RODRIGUES, B. dos S.; LUCINDO, T. de S. Seleção em populações de *Brachiaria ruziziensis* (Germain & Edvard) quanto à resistência a *Deois schach* (Fabricius, 1787) (Hemiptera: Cercopidae). In: SEMANA DE BIOLOGIA, 38., 2015, Juiz de Fora. **Evolução: do passado, no presente, para o futuro**: anais. Juiz de Fora: Universidade Federal de Juiz de Fora, 2015.

BARBOSA, R. H.; KASSAB, S. O.; FONSECA, P. R. B. da; ROSSONI, C.; SILVA, A. de S. Associação de *Metarhizium anisopliae* (Hyp: Clavicipitaceae) e thiamethoxam para o controle da cigarrinha-das-raízes em cana-de-açúcar. **Ensaios e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 15, n. 5, p. 41-51, 2011. DOI: <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2011v15n5p%25p>.

CARDONA, C.; MILES, J. W.; SOTELO, G. An improved methodology for massive screening of *Brachiaria* spp. genotypes for resistance to *Aeneolamia varia* (Homoptera: Cercopidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 92, n. 2, p. 490-496, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1093/jee/92.2.490>.

GARCIA, J. F.; BOTELHO, P. S. M.; PARRA, J. R. P. Biology and fertility life table of *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) in sugarcane. **Scientia Agricola**, v. 63, n. 4, p. 317-320, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-90162006000400001>.

RESENDE, R. M. S.; JANK, L.; VALLE, C. B. do; BARRIOS, S. C. L.; SANTOS, M. F. Melhoria convencional de forrageiras. Seleção genômica no melhoramento de forrageiras. In: SIMPÓSIO DE PASTAGEM E FORRAGICULTURA DO CAMPO DAS VERTENTES, 2., 2015, São João del-Rei. **Anais...** São João del-Rei: Universidade Federal de São João del-Rei, 2015. p. 114-130.

SOUZA, L. F.; MAURÍCIO, R. M.; GONÇALVES, L. C.; SALIBA, E. O. S.; MOREIRA, G. R. Produtividade e valor nutritivo da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em um sistema silvipastoril. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 54, p. 1029-1037, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352007000400032>.

SOUZA SOBRINHO, F. de; LEDO, F. J. da S.; KOPP, M. M.; PEREIRA, A. V.; SOUZA, F. F. de. Melhoramento de gramíneas forrageiras na Embrapa Gado de Leite. In: SIMPÓSIO E CONGRESSO DE FORRAGICULTURA E PASTAGENS, 7., 2009, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2009. p. 98-111.

VALÉRIO, J. R. **Cigarrinhas-das-pastagens**. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2009. 51 p. (Embrapa Gado de Corte. Documentos, 179).

Validação de um painel específico (*Fingerprinting*) para identificação da cultivar BRS Integra

Rafaella Lima Oliveira de Magalhães^(1,2), Ariany Lacerda Nogueira^(1,3), Robert Domingues⁽⁴⁾, Daniele Ribeiro de Lima Reis Faza⁽⁵⁾, Marta Fonseca Martins^(6,7), Marco Antonio Machado^(6,7), Ana Luisa Sousa Azevedo^(6,8)

⁽¹⁾Bolsista Pibic CNPq, ⁽²⁾Graduanda em Ciência Biológicas - UFJF, Juiz de Fora, MG. Email: rafaella.magalhaes1234@gmail.com, ⁽³⁾Graduanda em Medicina Veterinária - UFJF, Juiz de Foa, MG. Email: ariany.lacerda@icb.ufjf.br, ⁽⁴⁾Analista, Embrapa Pecuária Sul. E-mail: robert.domingues@embrapa.br, ⁽⁵⁾Analista, Embrapa Gado de Leite. E-mail: daniele.reis@embrapa.br, ^(6,7)Pesquisador (a), Embrapa Gado de Leite. Email: marco.machado@embrapa.br, ⁽⁸⁾Orientadora: ana.azevedo@embrapa.br

Resumo- As gramíneas representam a principal fonte de alimentação dos bovinos e o desenvolvimento de novas cultivares forrageiras impacta diretamente a pecuária nacional. Recentemente a Embrapa lançou uma nova cultivar de *Brachiaria* para utilização em sistemas integrados, a BRS Integra, que apresenta acentuada produção de palhada e massa seca de folhagem. Essa é a primeira cultivar sexual de *Brachiaria* lançada pela Embrapa e faz-se necessário um acompanhamento da estabilidade genética ao longo dos ciclos de produção de sementes. Essa avaliação deve ser rápida e precisa, para garantir que as sementes produzidas não foram contaminadas. A identificação baseada apenas na morfologia é trabalhosa e onerosa e uma alternativa é a utilização de marcadores moleculares específicos (*fingerprinting*). Com isso, o objetivo do presente trabalho foi obter um painel molecular para identificação genética da cultivar BRS Integra por meio do uso de marcadores microssatélites. Foram avaliadas sete populações de *U. ruziziensis* com cultivares Kennedy e BRS Integra. Um total de 230 alelos, variando de 100 a 500 pares de bases, foram detectados. Nas populações da cultivar Kennedy foram identificados 196 alelos, dos quais 78 eram únicos e nas populações da BRS Integra foram identificados 146 alelos, sendo 28 exclusivos dessa cultivar. Foi possível identificar alelos com frequências distintas entre as cultivares Kennedy e BRS Integra. Essas informações serão utilizadas para acompanhar a estabilidade genética das sementes comerciais produzidas anualmente, além de auxiliar na identificação de sementes piratas comercializadas ilegalmente.

Termos para indexação: *brachiaria*, microssatélites, SSR, *Urochloa*.

Validation of a specific panel (*Fingerprinting*) to identify BRS Integra cultivars

Abstract- Forage represents the main source of food for cattle and the development of new forage cultivars has a direct impact on national livestock. Recently, Embrapa launched a new *Brachiaria* cultivar to be used in integrated systems, BRS Integra, which presents a high production of straw and dry mass of foliage. This is the first sexual *Brachiaria* cultivar launched by Embrapa and it is necessary to monitor the genetics stability throughout the seed production cycles. This assessment must be quick and accurate, to ensure that the

seeds produced were not contaminated. Identification based only on morphology is laborious and costly and an alternative is the use of specific molecular markers (fingerprinting). Therefore, the objective of the present work was to obtain a molecular panel for the genetic identification of the cultivar BRS Integra through the use of a microsatellite marker. Seven populations of *U. ruziziensis* with Kennedy cultivars and BRS Integra were evaluated. A total of 230 alleles, ranging from 100 to 500 base pairs, were detected. In the Kennedy populations cultivar, 196 alleles were identified, of which 78 were unique, and in the BRS Integra population, 146 alleles were identified, 28 of which were exclusive to this cultivar. It was possible to identify alleles with different frequencies between Kennedy and BRS Integra cultivars. This information will be used to monitor the genetic stability of commercial seeds produced externally, in addition to assisting in the identification of pirated seeds sold illegally.

Index terms: brachiaria, microsatellite, SSR, *Urochloa*.

Introdução

Segundo levantamentos da Associação para o Fomento à Pesquisa de Melhoramento de Forrageiras (UNIPASTO), a produção e comercialização de sementes “piratas” de forrageiras tropicais alcançam 30% do mercado desse tipo de sementes (JOSÉ, 2013). O mercado ilegal traz prejuízo pra toda a cadeia produtiva. O pecuarista perde, pois, as sementes “piratas” têm qualidade duvidosa (baixa qualidade e pureza), o que compromete a formação e a qualidade de suas pastagens. Os produtores de sementes perdem devido à competição desleal pelo preço. Os obtentores das cultivares perdem porque deixam de receber os royalties, o que compromete o retorno dos investimentos às pesquisas de novas cultivares. Por fim, o governo perde porque deixa de arrecadar impostos, o que se traduz em prejuízo a toda sociedade brasileira.

A identificação de cultivares tem sido tradicionalmente realizada por meio de descritores morfológicos, aceitos para registro e proteção de cultivares pela UPOV (União Internacional para a Proteção de Novas Variedades de Plantas), da qual o Brasil é signatário (IPGRI, 1997). Entretanto, esses descritores têm muitas desvantagens, como baixo número e o fato de sofrerem a influência do ambiente na sua expressão, além de interações epistáticas, efeitos pleiotrópicos, etc. Ademais, a perícia desses descritores é, geralmente, difícil e restrita a especialistas.

A diferenciação de cultivares por meio de descritores morfológicos também apresenta dificuldades inerentes à grande similaridade morfológica entre as cultivares e à interferência ambiental na expressão das características. A utilização de marcadores moleculares específicos pode ajudar nesse processo de identificação, auxiliando na comprovação da origem genética da cultivar e nas atividades de fiscalização. Atualmente, existem muitas técnicas para determinar o perfil de DNA (DNA fingerprinting) para a diferenciação de cultivares e um exemplo é a utilização de marcadores microssatélites. Apesar de ainda não serem utilizados para registro e proteção de cultivares, os microssatélites vêm sendo muito utilizados para comprovação de hibridações dentro dos programas de melhoramento, na identificação de sementes piratas e na identificação de contaminação não intencional em campos de produção de sementes (Aviani; Santos, 2011).

Recentemente a Embrapa lançou a cultivar BRS Integra, primeira cultivar de *Urochloa ruziziensis* (*syn. Brachiaria ruziziensis*) desenvolvida para as condições de clima e solo

brasileiros. Essa cultivar visa disponibilizar aos agricultores uma opção para a produção de palhada nos sistemas integrados de cultivo envolvendo lavoura, pecuária e floresta (ILPF). A BRS Integra é uma cultivar sexuada, ou seja, demanda um controle maior nos campos de produção de sementes para evitar o cruzamento com outros materiais.

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo a identificação de um conjunto de marcadores moleculares específicos para a detecção de possíveis contaminações em lotes de sementes de BRS Integra, também contribuindo para apontar fraudes (pirataria de sementes). Os resultados que a seguir são expostos vão ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, contribuindo para o alcance dos seguintes objetivos específicos: ODS 2 - Erradicação da fome: acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável; ODS 8 - Empregos dignos e crescimento econômico: promover o crescimento econômico sustentado, inclusivo e sustentável, emprego pleno e produtivo, e trabalho decente para todos.

Material e métodos

Foram avaliadas sete populações de *U. ruzizensis* das cultivares Kennedy e BRS Integra (Tabela 1). O DNA de todas as amostras foi extraído a partir de folhas jovens utilizando o método de Bonato et al. (2002) e quantificado em espectrofotômetro Nanodrop 2000 (Thermo Scientific®). As reações de amplificação foram realizadas com volume final de 10 µL; foram adicionados 20 ng de DNA, tampão de PCR 1X (Promega, Fitchburg, EUA), 1,5 mM de MgCl₂, 0,3 mM de dNTP, 0,5 µM de primer e 1 U de GoTaq Polimerase (Promega). Todos os microssatélites foram sintetizados com marcação fluorescente na extremidade 5' (6FAM™, HEX, NED™ e TAMRA®) e o produto da PCR foi analisado no sequenciador SeqStudio (Thermo Scientific®). Com base no poder discriminatório dos alelos, foram desenvolvidos os perfis de DNA para cada uma das cultivares de *B. ruzizensis*.

Tabela 1. Populações avaliadas para desenvolvimento do painel para identificação da cultivar BRS Integra.

População	Cultivar	Número de indivíduos
VCU - Embrapa	BRS Integra	50 plantas
Semente comercial - UNIPASTO	BRS Integra	48 plantas
Semente genética - Várzea	BRS Integra	31 plantas
Globo Rural	Kennedy	48 plantas
Wolf	Kennedy	48 plantas
Ponto Alto	Kennedy	48 plantas
VCU-Embrapa Kennedy	Kennedy	50 plantas

Resultados e discussão

Doze pares de primers foram utilizados para avaliação das sete populações de *U. ruziziensis*. Foram detectados 230 alelos no total (média de 19,2 alelos por marcador), variando de 100 a 500 pares de bases. Nas populações da cultivar Kennedy foram identificados 196 alelos, dos quais 78 eram únicos e nas populações da BRS Integra foram identificados 146 alelos, sendo 28 exclusivos dessa cultivar (Figura 1).

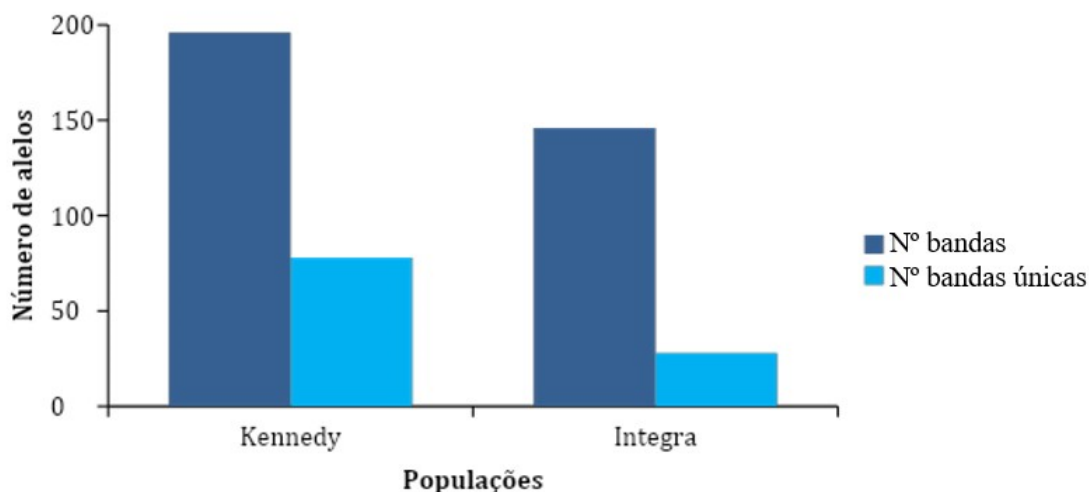


Figura 1. Número de alelos identificados dentro de cada uma das cultivares analisadas – Kennedy e BRS Integra.

Foi realizada uma análise prévia de variância molecular para verificar se os marcadores moleculares selecionados conseguiam identificar variabilidade entre as populações. A maior parte da variabilidade (93%) foi identificada dentro das populações e apenas 7% da variância existente é decorrente da variabilidade entre as sete populações amostradas.

Analisando as sete populações separadamente, foi possível identificar alelos únicos dentro de cada uma delas e foi estabelecida a frequência alélica para posterior determinação dos marcadores mais informativos para diferenciação das duas cultivares.

A partir da avaliação da frequência alélica dentro de cada uma das populações avaliadas, foram selecionados 10 marcadores informativos. Foram selecionados marcadores com frequência alélica distinta entre as duas cultivares. Vinte e quatro alelos se mostraram promissores para auxiliar na distinção entre as duas cultivares (Tabela 2).

Tabela 2. Marcadores usados e respectivas frequências alélicas nas populações das cultivares Kennedy e BRS Integra.

Alelo	Frequência alélica Kennedy	Frequência alélica BRS Integra
108_253	0,16	0,03
108_257	0,55	0,06
108_263	0,11	0,00
108_271	0,00	0,67
112_239	0,57	0,10
138_244	0,07	0,00
138_254	0,41	0,03
138_248	0,36	0,17
034_176	0,12	0,01
037_141	0,05	0,00
037_148	0,50	0,11
037_150	0,53	0,20
037_171	0,05	0,00
132_235	0,06	0,01
132_261	0,13	0,02
132_265	0,09	0,02
132_273	0,11	0,02
139_247	0,23	0,07
139_249	0,10	0,77
007_154	0,16	0,02
007_156	0,72	0,30
080_149	0,18	0,03
080_150	0,28	0,02
098_251	0,56	0,07

Conclusões

Foi possível identificar alelos com frequências distintas entre as cultivares Kennedy e BRS Integra. Essas informações serão utilizadas para acompanhar a estabilidade genética das sementes comerciais produzidas anualmente, além de auxiliar na identificação de fraudes, sementes piratas comercializadas ilegalmente.

Referências

AVIANI, D. M.; SANTOS, F. S. Uso de marcadores moleculares em proteção de cultivares. In: In: PROTEÇÃO de Cultivares no Brasil. Brasília, DF, 2011. p.155-158.

JOSÉ, M. R. **FORAGEIRAS**: uma grande parceira para o agronegócio. Pelotas: Associação Brasileira de Sementes e Mudanças, 2012. Anuário.

UNIPASTO. Associação de fomento a pesquisa de melhoramento de forrageiras tropicais. IBGE, INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, Brasil, 2017.

VALLE, C. B. do; SIMIONI C.; RESENDE, R. M. S.; JANK, L. **Melhoramento de forrageiras tropicais**. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2009. 293 p.

VALLE, C. B. do; BARRIOS, S. C. L.; JANK, L.; SANTOS, M. F. Melhoramento de plantas forrageiras para uma pecuária de baixa emissão de carbono. In: SIMPÓSIO DE PECUÁRIA INTEGRADA, 1., 2014, Sinop, MT. **Intensificação da produção animal em pastagens**: Anais... Brasília, DF: Embrapa, 2014.

Valor nutritivo da forragem de genótipos de capim-elefante anão submetidos a duas intensidades de desfolha

Laura Eliza F. Paiva⁽¹⁾, Rafael B. da Silva⁽²⁾, Thamyres Rosa C. Silva⁽³⁾, Karina G. Ribeiro⁽⁴⁾, Francisco José Silva Ledo⁽⁵⁾, Domingos Sávio Campos Paciullo⁽⁵⁾, Carlos Augusto de Miranda Gomide⁽⁵⁾

⁽¹⁾Graduanda em Medicina Veterinária da UNIVERSO, Juiz de Fora, MG, e-mail: elizalaurapaiva@gmail.com, ⁽²⁾Doutorando, Departamento de Zootecnia da UFV, Viçosa, MG, ⁽³⁾Graduanda em Ciências Biológicas da UNIACADEMIA, Juiz de Fora, MG, ⁽⁴⁾ Professora do Departamento de Zootecnia da UFV, Viçosa, MG, ⁽⁵⁾Pesquisador da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. E-mail: carlos.gomide@embrapa.br

Resumo- Objetivou-se avaliar o valor nutritivo da forragem de genótipos de capim elefante de porte baixo submetidos a duas intensidades de desfolhação. O experimento foi instalado em esquema fatorial 5 x 2, sendo cinco genótipos de capim elefante (2022, 1810, 2111, 2035 e a BRS Kurumi) e duas alturas de resíduo (25 cm e 45 cm). Foi utilizado delineamento de blocos casualizados com três repetições em parcelas de 4 mx3 m. As parcelas foram cortadas quando o dossel atingia 93% - 95% de interceptação luminosa e foi separada uma amostra de forragem colhida acima do resíduo para determinação das variáveis: teor de matéria seca, fibra em detergente neutro (FDN), proteína bruta (PB) e digestibilidade *in vitro* da MS (DIVMS). Não foi observada interação entre genótipo e altura de resíduo para as variáveis estudadas. A DIVMS não foi afetada por nenhum dos fatores estudados, apresentando valor médio de 60,1%. Para o teor de matéria seca todos os genótipos apresentaram teores superiores ao da testemunha BRS kurumi (11,4), com destaque para os genótipos 2022, 1810 e 2111, que apresentaram os maiores valores (respectivamente, 14,7; 13,8; 13,2). A variável fibra em detergente neutro seguiu comportamento semelhante, sendo observados valores superiores para os novos genótipos 2021, 2022, e 1810 (respectivamente, 65,2; 65,0; 63,5) quando comparados com a testemunha BRS Kurumi (58,0). Já para o teor de proteína bruta observou-se que a cultivar BRS kurumi apresentou maior concentração de proteína bruta (16,9%). No entanto a mesma não diferiu estaticamente dos genótipos 2022, 1810, e 2035 (respectivamente, 14,6; 15,5; 15,6). Como conclusão tem-se que os genótipos 1810 e 2022 apresentam teores mais elevados de MS e FDN na forragem e teores de PB e DIVMS semelhantes ao BRS Kurumi. As alturas de resíduo não afetaram as variáveis de valor nutritivo da forragem colhida acima do resíduo.

Termos para indexação: altura de resíduo, digestibilidade *in vitro* da matéria seca, fibra em detergente neutro, interceptação luminosa, proteína bruta, teor de matéria seca.

Forage nutritive value of dwarf elephant grass genotypes submitted to two defoliation intensities

Abstract- The objective was to evaluate the nutritive value of the forage of dwarf elephant grass genotypes submitted to two defoliation intensities. The experiment was carried out in a 5 x 2 factorial arrangement, with five elephant grass genotypes (2022, 1810, 2111, 2035 and BRS Kurumi) and two residual heights (25 cm and 45 cm). A randomized block design with three replications in 4 mx3 m plots was used. Plots were cut when the canopy reached 93%-95% of light interception and a forage sample collected above the residue was separated to determine the variables: dry matter content, neutral detergent fiber (NDF), crude protein (CP) and in vitro dry matter digestibility (IVDMD). No interaction was observed between genotype and residual heights for the studied variables. The IVDMD was not affected by any of the factors, with an average value of 60.1%. For dry matter content, all genotypes showed higher levels than the BRS Kurumi control (11.4), with emphasis on genotypes 2022, 1810 and 2111, which showed higher values (14.7, 13.8, and 13.2 respectively). The neutral detergent fiber variable followed a similar behavior, with higher values being observed for the new genotypes 2021, 2022, and 1810 (65.2, 65.0, and 63.5) when compared to the control BRS Kurumi (58.0). Higher crude protein content was observed for the cultivar BRS Kurumi (16.9%). However, it did not differ statistically from genotypes 2022, 1810, and 2035 (14.6, 15.5 and 15.6 respectively). In conclusion, genotypes 1810 and 2022 have higher DM and NDF content in the forage and CP and IVMSD content similar to BRS Kurumi. Residual heights did not affect the nutritive value variables of forage harvested above the residue.

Index terms: crude protein, dry matter content, dry matter digestibility, light interception, neutral detergent fiber, stubble height.

Introdução

A espécie *Cenchrus purpureus* se destaca como recurso forrageiro por possuir cultivares com elevada produção de forragem, qualidade nutricional superior e boa aceitação pelos animais (Pereira et al., 2021). Embora a espécie apresente grande potencial para o pastejo, por muitos anos as tentativas de pastejo de suas cultivares foram frustradas, em função do alto porte das plantas, o que dificultava a colheita pelos animais. Com o lançamento da cultivar BRS Kurumi, em 2012, tal entrave para utilização desta espécie sob pastejo foi superada. No entanto, ainda são poucas as variedades de *Cenchrus purpureus* com porte apropriado ao pastejo, o que torna de fundamental importância a avaliação de novos materiais quanto a adequação ao pastejo direto

Para o lançamento de uma nova cultivar forrageira destinada para pastejo é fundamental estabelecer a adequada intensidade e frequência de desfolhação. É necessário o conhecimento da dinâmica de crescimento do genótipo, para promover maior aproveitamento do seu potencial produtivo e valor nutritivo, evitando erros que possam levar à degradação da pastagem ou subutilização do potencial genético da cultivar forrageira.

O valor nutritivo está intimamente ligado ao avanço da maturidade fisiológica da planta e pode ser afetado pelas ações de manejo. O manejo de pastejo objetiva o máximo aproveitamento da forragem produzida, promovendo diminuição das perdas por senescência e aumento da eficiência de pastejo (Reis; Silva, 2006). Tais recomendações de manejo intensivo de pastagens buscam aumentar a relação folha-colmo e reduzir a proporção

de colmos e folhas mortas levando ao acúmulo de forragem de alto valor nutritivo, mas com baixo teor de matéria seca. O excesso de umidade da forragem colhida pode ser um limitante ao atingimento do consumo diário de matéria seca de vacas em pastejo (Soares et al., 2009).

Diante disso objetivou-se caracterizar o valor nutritivo de genótipos de capim-elefante de porte anão submetidos a duas intensidades de desfolhação. Os resultados obtidos vão ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, nos seguintes objetivos específicos: ODS 2: “Acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável; ODS 8 - Empregos dignos e crescimento econômico: Promover o crescimento econômico sustentado, inclusivo e sustentável, emprego pleno e produtivo, e trabalho decente para todos; ODS 12: “Assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis”.

Material e métodos

O experimento foi conduzido no Campo Experimental José Henrique Bruschi, da Embrapa Gado de Leite, localizado em Coronel Pacheco-MG, (21º33'22" de latitude sul, 43º06'15" de longitude oeste e 410 m de altitude). O solo das áreas experimentais é classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico, de textura argilosa (Santos et al., 2018).

O plantio ocorreu por meio de mudas cultivadas em tubetes e transplantadas para o campo em 24/11/2021. O espaçamento de plantio foi de 50 cm entre linhas e 50 cm entre mudas. No momento do plantio foi realizada a adubação fosfata (superfosfato simples) no fundo do sulco de plantio com o equivalente a 100 kg/ha de P_2O_5 . O ensaio foi instalado em esquema fatorial 5 x 2, sendo cinco genótipos de capim elefante (2022; 1810; 2111; 2035; BRS Kurumi) e duas alturas de resíduo (25 cm e 45 cm) seguindo o delineamento em blocos casualizados com três repetições, em parcelas de 4 m x 3 m. A adubação de cobertura ocorreu em 29/12/2021 com o equivalente a 30 kg/ha por meio da formulação 20-05-20 (N-P-K). Após um corte de uniformização e rebaixamento das parcelas em suas respectivas alturas de resíduo realizado em 20/01/2022, a frequência de corte foi baseada no alcance da interceptação luminosa (IL) de 93%-95% pelo dossel. O monitoramento da interceptação luminosa (IL) pelo dossel foi feito semanalmente com o analisador de dossel LP80 (Accupar), em quatro pontos por parcela.

A colheita de amostras de forragem nas parcelas foi feita dentro de molduras de 1,0 m x 0,5 m. Após a colheita, o restante da forragem foi rebaixado nas respectivas alturas pré-determinadas, com uso de uma roçadora costal. Após cada colheita, as parcelas receberam adubação de cobertura, por meio da formulação 20-05-20 (N-P-K), com o equivalente a 50 kg/ha de N e de K_2O , realizada na estação chuvosa.

A caracterização do valor nutritivo da forragem foi realizada para a época chuvosa (janeiro a março de 2022), sendo analisadas as amostras de forragem colhidas acima das respectivas alturas de resíduo em dois cortes de avaliação. Para tanto, em cada unidade experimental foram retiradas duas amostras do material vegetal existente acima da altura de resíduo. Após a colheita, as amostras foram submetidas à secagem em estufa (55 °C) por 72 horas, moagem em moinho com peneiras de 1 mesh, e determinação dos teores de matéria seca (estufa a 105 °C). Os teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro

(FDN) e o coeficiente de digestibilidade da matéria seca (DIVMS) foram analisados no Laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Gado de Leite conforme metodologia descrita por (Detmann et al., 2012).

Os dados foram submetidos à análise de variância realizada pelo software R, sendo a comparação entre genótipos e alturas de resíduo realizadas pelo teste de Tukey e teste F, respectivamente, a 5% de probabilidade.

Resultados e discussão

Não foi observada interação entre genótipo e altura de resíduo para as variáveis estudadas. Quanto ao teor de matéria seca, todos os genótipos apresentaram concentrações superiores ao da testemunha BRS kurumi (11,4%), com destaque para os genótipos 2022, 1810 e 2111 que apresentaram valores de 14,7, 13,8 e 13,2 respectivamente, e não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 1). A redução do intervalo de rebrota na primavera/verão, obtido com o manejo baseado no alcance da interceptação luminosa de 95% pelo dossel forrageiro, tem proporcionado melhoria na estrutura do dossel e no valor nutritivo da forragem de gramíneas tropicais (Reis; Silva, 2006; Gomide et al., 2022). Entretanto, o teor de matéria seca da forragem, constituído primordialmente por folhas jovens, apresenta valores baixos. Para vacas em lactação, Jarrige et al. (1986) avaliaram que teores de MS abaixo de 18% na forragem podem limitar o consumo diário. Neste sentido, Soares et al. (2009) observaram que, apesar do menor teor de FDN do capim-elefante colhido com 30 dias de rebrotação relativamente aos 45 dias e 60 dias, houve menor consumo de MS por vacas confinadas recebendo capim-elefante picado *ad libitum*. Neste estudo os autores observaram consumo diário de MS de 8 kg/vaca, 10 kg/vaca e 11 kg/vaca e teores de MS da forragem de 12,8, 15,9 e 18,2, respectivamente aos capins colhidos com 30 dias, 45 dias e 60 dias de rebrota.

O teor de FDN foi menor para a testemunha BRS Kurumi (58%). Os genótipos 2022, 1810 e 2111 apresentaram teores mais elevados de FDN (65%, 63% e 65%, respectivamente), enquanto o genótipo 2035 apresentou valor intermediário (62%). Altos teores de FDN da forragem, acima de 60%, podem afetar o consumo de matéria seca de animais em pastejo por seu efeito no enchimento ruminal (Van Soest, 1994).

Para a variável proteína bruta observou-se que a cultivar BRS kurumi apresentou maior concentração de proteína bruta (16,9%). No entanto, a mesma não diferiu estaticamente dos genótipos 2022, 1810 e 2035, que apresentaram teores de 14,6, 15,5 e 15,6, respectivamente.

O coeficiente de DIVMS não variou significativamente entre os genótipos, apesar de valores variando de 54,9 a 66,8%. Os valores de DIVMS encontrados neste trabalho são semelhantes e/ou superiores àquele encontrado por Soares et al. (2009) em capim-elefante picado com 30 dias de rebrotação.

Tabela 1. Valores médios dos teores (%) de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e coeficiente de digestibilidade in vitro da MS (DIVMS) da forragem de genótipos de capim-elefante durante a época chuvosa.

Genótipo	MS	PB	FDN	DIVMS
	%			
2022	14,7a	14,6ab	65,0a	54,9a
1810	13,8ab	15,5ab	63,5ab	59,2a
2111	13,2abc	13,0 b	65,2a	66,8a
2035	12,5bc	15,6ab	62,1b	60,0a
Kurumi	11,4c	16,9a	58,0c	59,7a

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As alturas de resíduo não afetaram as variáveis de valor nutritivo avaliadas (Tabela 2). Tal fato pode ser atribuído ao fato de que as plantas foram colhidas quando o dossel atingia entre 93 e 95 % de interceptação luminosa para ambas as alturas. Este nível de interceptação luminosa é conhecido como o momento da rebrotação em que se previne o acúmulo de colmos e folhas mortas (Reis; Silva, 2006). Outro aspecto a ser mencionado é que a forragem avaliada foi colhida acima do resíduo e não aquela cortada rente ao solo.

Tabela 2.- Teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS) da forragem de genótipos de capim-elefante conforme as alturas de resíduo.

Altura de Resíduo	MS	PB	FDN	DIVMS
25	12,8	14,4	63,3	61,1
45	13,4	15,9	62,2	59,1
Média	13,1	15,1	62,7	60,1

Conclusões

A altura de resíduo não influenciou as variáveis de valor nutritivo estudadas.

Os genótipos de capim elefante 2022, 1810 e 2111, provenientes de cruzamentos do Programa de Melhoramento de Forrageiras da Embrapa Gado de Leite, apresentaram teores mais elevados de matéria seca e fibra em detergente neutro quando comparados a BRS Kurumi.

Os tores de proteína bruta dos genótipos 2022, 1810 e 2035 são semelhantes ao da BRS Kurumi, embora com valores superiores de FDN.

A DIVMS não variou nem entre os genótipos nem em função das alturas de resíduo estudadas.

Agradecimentos

À Fapemig pelo auxílio financeiro (APQ 02763-21) e bolsa de apoio técnico da primeira autora.

À Unipasto pelo auxílio financeiro.

Referências

- DETMANN, E.; SOUZA, M. A.; VALADARES FILHO, S. C.; QUEIROZ, A. C.; BERCHIELLI, T. T.; SALIBA, E. O. S.; CABRAL, L. S.; PINA, D. S.; LADEIRA, M. M. AZEVEDO, J. A. G. **Métodos para análise de alimentos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012. 214 p.
- GOMIDE, C. A. M.; JANK, L.; PACIULLO, D. S. C.; MARTUSCELLO, J. A.; EUCLIDES, V. P. B. A espécie *Panicum maximum* e a nova pecuária brasileira. In: SANTOS, M. V. F.; NEIVA, J. N. M. **Culturas forrageiras no Brasil: uso e perspectivas**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2022. p. 89-120.
- JARRIGE, R.; DEMARQUILLY, C.; DULPHY, J. P.; HODEN, A.; ROBELIN, J.; BERANGER, C.; GEAY, Y.; JOURNET, M.; MALTERRE, C.; MICOL, P.; PETIT, M. The INRA "Fill Unit" system for predicting the voluntary intake of forage-based diets in ruminants: a review. **Journal Animal Science**, v. 63, n. 6, p. 1737-1758, 1986. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas1986.6361737x>.
- PEREIRA, A. V.; LIRA, M. A.; MACHADO, J. C.; GOMIDE, C. A. M.; MARTINS, C. E.; LEDO, F. J. S.; DAHER, R. F. Elephantgrass, a tropical grass for cutting and grazing. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 16, n. 3, e9317, 2021. DOI: <https://doi.org/10.5039/agraria.v16i3a9317>.
- REIS, R. A.; SILVA, S. C. da. Consumo de forragens In: BERCHIELLI, T. T.; VAZ Pires, A.; OLIVEIRA, S. G. (ed.). **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 79-109.
- SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A.; CUNHA, T. J. F. OLIVEIRA, J. B. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 5. ed. rev. e ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2018.
- SOARES, J. P. G.; AROEIRA, L. J. M.; DERESZ, F.; SALMAN, A. K. D. **Capim-elefante, em três idades de corte, fornecido picado**: fatores limitantes do consumo de vacas leiteiras confinadas. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2009. 24 p. (Embrapa Rondônia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 59).
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476 p.

Apoio

