

Eventos Técnicos & Científicos

e-ISSN 2966-0858



Outubro, 2024

OBJETIVOS DE
DESENVOLVIMENTO
SUSTENTÁVEL



Anais

XXIX Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite

29 de agosto de 2024

Juiz de Fora, MG



Embrapa

Gado de Leite

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

e-ISSN 2966-0858

Eventos Técnicos & Científicos

3

Outubro, 2024

Anais

XXIX Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite PIBIC/CNPq

29 de agosto de 2024
Juiz de Fora, MG

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

*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**Heloisa Carneiro**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*

Edição executiva

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

Diagramação

Luiz Ricardo da Costa

Projeto gráfico

Luiz Ricardo da Costa

Publicação digital: 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 - PIBIC/CNPq (29. : 2024 : Juiz de Fora, MG).

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

PDF (137 p.) : il. color. - (Eventos Técnicos & Científicos / Embrapa Gado de Leite, e-ISSN 2966-0858 ; 3).

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

CDD (21. ed.) 636.2082

Comissão Organizadora

Coordenação

Leônidas Paixão Passos
Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG

Membros

Carlos Renato Tavares de Castro
Cristiano Amancio Vieira Borges
Clara Slade Oliveira
Jorge Fernando Pereira
Nuriane Santos Montezano
Kenny Beatriz Siqueira
Letícia Caldas Mendonça
Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG

Mariana Paes da Fonseca
Júlio César José da Silva
Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG

Equipe de apoio

Alessandra Rocha Martins
Dulcinéa Aparecida Machado
Leonardo Mariano Gravina Fonseca
Pricila Estevão
Rubens Antônio Neiva
Warley Stefany Nunes
William Fernandes Bernardo
Yasmin Schaefer de Oliveira (menor aprendiz)
Tamyres Helena de Oliveira (menor aprendiz)
Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG

Comitê técnico-científico

Leônidas Paixão Passos - Editor científico
Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG

Avaliadores internos

Edna Froeder Arcuri
José Luiz Bellini Leite
Wagner Antonio Arbex
Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG

Avaliadores externos

Júlio César José da Silva
Mariana Paes da Fonseca
Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG

Apresentação

O Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (Pibic) do Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) é conduzido anualmente pela Embrapa Gado de Leite, sob a coordenação da Gerência-Adjunta de Administração e Atendimento de Pessoal (GAAP) da Embrapa. Cada edição anual do PIBIC é finalizada com uma oficina de trabalho, reunindo orientadores, bolsistas e membros da comunidade técnico-científica, na qual o estado da arte deste Programa é avaliado, a partir da apresentação dos trabalhos realizados e de discussões objetivas e da antevisão de caminhos a serem seguidos pelos iniciantes na ciência.

O presente documento reúne os trabalhos apresentados no *XXIX Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite*, realizado em 29 de agosto de 2024, no âmbito do PIBIC CNPq 2023-2024. Foram apresentados 27 trabalhos, cobrindo várias áreas da ciência básica à ciência aplicada. O evento reuniu 86 participantes, congregando 16 instituições parceiras.

Algumas soluções criativas para problemas e desafios específicos merecem destaque. A contribuição recente deste PIBIC para o cumprimento dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU (ODS) foi mapeada. Além disso, novos avanços no uso de espécies forrageiras, na reprodução e no melhoramento genético animal foram apresentados. Também merecedores de realce foram os trabalhos voltados para caracterização dos perfis dos consumidores de produtos lácteos. Muitos desafios persistem à frente, mas a formação de futuros cientistas nesta Unidade progride de forma incremental.

Registramos nosso reconhecimento ao auxílio do CNPq na formação de futuros cientistas para o agronegócio do leite no Brasil. Cumprimos assim o objetivo central do PIBIC CNPq, de incentivar o pensamento científico e a iniciação à pesquisa de estudantes de graduação do ensino superior.

Assinalamos, mais uma vez, nossa gratidão à Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) pela atuação em comissões do evento.

Denis Teixeira da Rocha

Chefe-Geral da Embrapa Gado de Leite

Sumário

Contribuições do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica para os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável	9
Efeitos da suplementação de Ácido Oleico e Ácido Esteárico no meio de maturação <i>in vitro</i> sobre a atividade mitocondrial, estresse oxidativo e peroxidação lipídica em oócitos e células do cumulus em bovinos	14
Sustentabilidade e relação de indicadores econômicos e ambientais em fazendas produtoras de leite no Brasil	18
Efeito da raça e do sistema integrado pecuária-floresta na hipertermia em novilhas leiteiras durante o verão	23
Hipertermia em novilhas leiteiras no verão e efeitos atenuantes do sistema integrado pecuária-floresta em diferentes estádios de crescimento	27
Efeito do estresse térmico em vacas holandesas de primeira lactação no Sudeste do Brasil	32
Montagem e funcionamento de biorreatores para processo de compostagem: cama de <i>Compost Barn</i> em escala laboratorial	37
Adensamento versus volume da dieta líquida: efeito no desenvolvimento corporal e desempenho de bezerros	42
Adensamento versus volume da dieta líquida: efeito nos parâmetros ruminais de bezerros	47
Identificação de áreas de vulnerabilidade para raiva em herbívoros no Estado do Rio de Janeiro no período de 2020 a 2023	52
Desenvolvimento de LAMP PCR para Diagnóstico de Babesiose Causada por <i>Babesia bigemina</i>	57
Formação de biofilme por <i>Moraxella</i> spp. isoladas em surtos de Ceratoconjuntivite Infecciosa Bovina no Brasil	62
Identificação de novos miRNAs expressos em tetos extracorpóreos bovinos inoculados com <i>Streptococcus agalactiae</i>	67
Avaliação de clones de capim-elefante indicados para pastejo e silagem, quanto à resistência a <i>Maharva spectabilis</i> (Hemiptera:Cercopidae) por meio dos mecanismos de antibiose e tolerância	71
Efeitos da adição de precursor e de produto da enzima SCD1 durante a maturação <i>in vitro</i> de oócitos bovinos no desenvolvimento pré-implantacional	76
A via de formação do ácido oleico é importante para a qualidade de embriões bovinos?	80
Avaliação de mutações no gene receptor da prolactina em bovinos da raça Holandesa do Instituto Agrônomo de Pernambuco	85
Avaliação da presença de touros das raças Gir e Girolando portadores de Citrulinemia no Brasil	89
Genotipagem de genes de proteínas do leite, kappa-caseína, beta- caseína e beta-lactoglobulina, em touros Gir e Girolando	94
Bem estar subjetivo dos produtores de leite em Minas Gerais: atividade leiteira, rentabilidade, suporte governamental e crédito	99

Bem estar subjetivo dos produtores de leite em Minas Gerais: vida social, saúde, trabalho e lazer.....	104
Características da biomassa e da silagem de genótipos de capim-elefante visando à produção de biogás.....	109
Avaliação da prevalência de endometrite citológica no pós-parto de vacas leiteiras alojadas em sistemas <i>Compost barn</i>	114
Adição de fator estimulador de colônias 2 (CSF2) ao meio de cultivo embrionário na presença ou ausência de soro e efeitos sobre o desenvolvimento embrionário e características neonatais da progênie	118
Percepção do público universitário sobre o leite	123
Padrões de consumo de queijos no Brasil: Uma abordagem por meio do Observatório do Consumidor	128
Previsão de Vendas de Lácteos no Brasil	133

Contribuições do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica para os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável

Leônidas Paixão Passos^{(1) (4)}, Yara Beatriz Moreira⁽²⁾, Carlos Renato Tavares de Castro⁽¹⁾ e Julieta de Jesus Silveira Castor⁽³⁾

⁽¹⁾Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾ Bolsita (Pibic/Fapemig), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾ Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾e-mail: leonidas.passos@embrapa.br

Resumo — As contribuições do PIBIC Embrapa Gado de Leite (CNPq e Fapemig) para os 17 ODS da ONU em 2023 foram mapeadas a partir dos trabalhos publicados, com base na aderência das áreas do conhecimento (ACs), cursos de graduação (CGs) dos bolsistas e número de autores (NA). As ACs contemplaram 10 ODS, com destaque para “Fome zero e agricultura sustentável” (2) e “Consumo e produção responsáveis” (12). Os perfis de CNPq e Fapemig foram similares, com maior frequência de associações pelo CNPq em vista do número superior de bolsistas e publicações. Os 14 CGs mostraram interface com a missão da Embrapa e maior relacionamento com o ODS 8, com destaque para medicina veterinária (MV). A ocorrência de 226 autores foi considerada expressiva, com a aderência às ODS influenciada pela prevalência da MV. Espera-se que este mapeamento contribua para a ampliação do atendimento dos ODS, com ganho incremental para o PIBIC.

Termos para indexação: Agenda 2030, bovinocultura de leite, gestão, iniciação científica.

Mapping the contributions of PIBIC Embrapa Dairy Cattle to the UN Strategic Development Goals (SDGs)

Abstract — A mapping was carried out on the contributions of PIBIC Embrapa Dairy Cattle (CNPq and Fapemig) to the 17 UN SDGs in 2023 by examining the adherence of the published papers to such goals based on areas of knowledge (A-of-K), undergraduate courses (UCs) of scholarship holders and number of authors (NA). The A-of-K covered 10 SDGs, with emphasis on zero hunger and sustainable agriculture (2) and responsible consumption and production (12). The profiles of CNPq and Fapemig were similar, with a higher frequency of associations by CNPq in view of the higher number of scholarship holders and published papers. The 14 UGs showed an interface with the mission of Embrapa and a greater relationship with SDG 8, with emphasis on veterinary medicine (VM). The occurrence of 226 authors was considered significant, with adherence to the SDGs influenced by the prevalence of VM. It is expected that this mapping will contribute to expanding compliance with the SDGs, with incremental gains for PIBIC.

Index terms: Agenda 2030, dairy cattle farming, management, scientific initiation.

Introdução

A Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável foi oficializada pelos 193 países-membros das Nações Unidas (ONU) na Cúpula de Desenvolvimento Sustentável, em setembro de 2015 (Nações Unidas, 2015). O documento apresenta os seguintes Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS): 1. Erradicação da pobreza; 2. Fome zero e agricultura sustentável; 3. Saúde e bem-estar; 4. Educação de qualidade; 5. Igualdade de gênero; 6. Água potável e saneamento; 7. Energia limpa e acessível; 8. Trabalho decente e crescimento econômico; 9. Indústria, inovação e infraestrutura; 10. Redução das desigualdades; 11. Cidades e comunidades sustentáveis; 12. Consumo e produção responsáveis; 13. Ação contra a mudança global do clima; 14. Vida na água; 15. Vida terrestre; 16. Paz, justiça e instituições eficazes; e 17. Parcerias e meios de implementação.

Com a adoção desse compromisso pelo Brasil, foi criada na Embrapa a Rede ODS, como estratégia para estimular a empresa a participar de um debate produtivo sobre as soluções que contribuirão para o alcance desses objetivos. Os direcionamentos para tanto estão explicitados em seu Plano Diretor (Embrapa, 2024). Da mesma forma, o CNPq e a Fapemig adotaram a Agenda 2030 em seus respectivos planejamentos estratégicos para a consecução dos ODS no financiamento de projetos.

Apesar da universalização do foco na Agenda 2030, o ajustamento de iniciativas de P&D aos ODS tem sido analisado com macroindicadores, não havendo ainda um mapeamento de contribuições a partir de indicadores de base. Considerando que o propósito do PIBIC (Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica) é servir de incentivo à formação de novos pesquisadores, privilegiando a participação ativa de alunos do ensino superior em projetos de pesquisa com mérito científico e orientação adequada, no qual a Embrapa Gado de Leite detém 16 cotas do CNPq e 10 cotas da Fapemig, a análise da aderência desse programa aos ODS, além de inédita, apresenta-se como importante ferramenta para a melhoria desse programa.

Este trabalho teve por objetivo mapear as contribuições do PIBIC Embrapa Gado de Leite para o alcance dos objetivos da Agenda 2030, utilizando como indicadores a aderência das ACs, CGs e NA registrados em 2023 aos 17 ODS das Nações Unidas.

Material e métodos

As atribuições de ODS foram coletadas nos resumos expandidos publicados nos anais dos workshops PIBIC realizados em 2023, sendo 20 trabalhos do CNPq e 13 da Fapemig (Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite, 2024a, 2024b). A área do conhecimento de cada resumo expandido, conforme indicada pelo respectivo orientador de bolsista, foi registrada (Brasil, 2024). Foram anotados os CGs de cada bolsista e o número de autores de cada trabalho.

O mapeamento foi construído elaborando uma planilha na qual a AC foi relacionada aos ODS registrados em cada resumo expandido, considerando o universo dos 17 ODS preconizados pelas Nações Unidas. Cumpre observar que, conforme o tema de estudo, ocorreram resumos expandidos abrangendo mais de um ODS. Em seguida, o mapeamento foi complementado elaborando uma tabela na qual os CGs dos bolsistas e os NAs total e médio por CG foram também alocados para os ODS registrados nos respectivos trabalhos.

Resultados e discussão

A Figura 1 apresenta a conexão das ACs abordadas no PIBIC com os ODS. O mapeamento detalhando dessa conexão está apresentado no ANEXO. Os ODS 12 e 2 se destacaram com as maiores incidências de trabalhos, seguidos pelos ODS 8 e 3, e menores ocorrências nos ODS 1, 6, 7, 9, 13 e 15. O PIBIC não contemplou os ODS 4, 5, 10, 11, 14, 16 e 17. Verifica-se que os ODS contemplados com os maiores números de ACs são aqueles mais explicitamente associados à missão da Embrapa, de “viabilizar soluções de pesquisa, desenvolvimento e inovação para a sustentabilidade da agricultura, em benefício da sociedade brasileira”, no que tange a bovinocultura de leite.

Os PIBIC CNPq e FAPEMIG apresentaram perfis similares de ODS, porém havendo diferenças nas distribuições e frequências das ACs dentro de cada ODS. O CNPq gerou 53 relacionamentos com os ODS, superando os 28 casos verificados com a FAPEMIG (ANEXO), predominantemente por causa do maior número de bolsistas e publicações. Além disso, houve casos de relacionamento exclusivo - o CNPq com os ODS 9 e 15 e a FAPEMIG com o ODS 1 (Figura 1). Esse contraste está refletido na distribuição das ACs entre os dois programas (Tabela 1). Das 21 ACs cobertas em 2023, o PIBIC CNPq abordou 15 com exclusividade e outras três em conjunto com o PIBIC FAPEMIG, o qual – por sua vez – teve exclusividade somente em três ACs, com destaque para “economia do consumidor”, a qual foi a AC com o maior número geral de interações com os ODS.

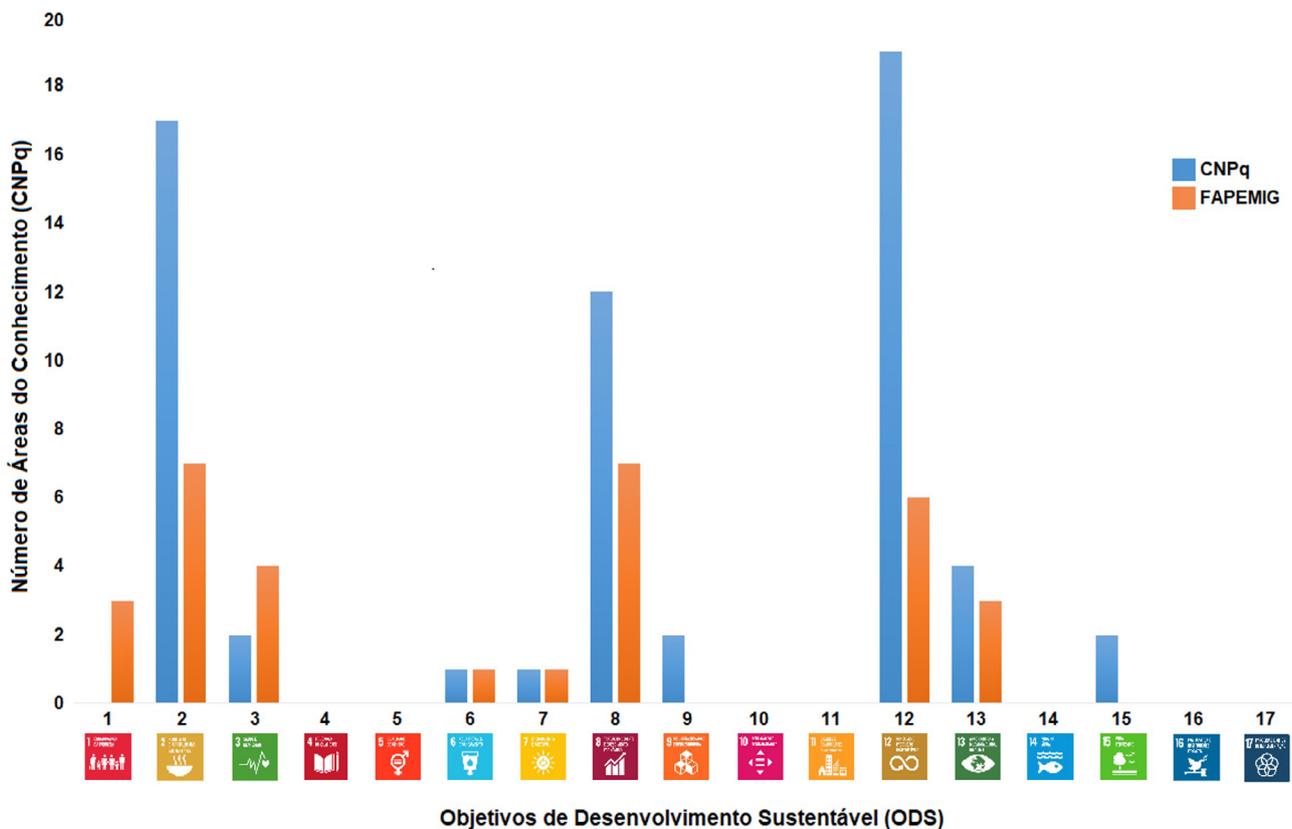


Figura 1. Mapeamento do relacionamento das áreas do conhecimento abordadas pelo PIBIC 2023 (CNPq e Fapemig) aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) das Nações Unidas.

O alinhamento do Plano Diretor da Embrapa (Embrapa, 2024) com os ODS mostra sua contribuição para atingir as 169 metas estabelecidas nos 17 ODS. Cada Unidade da Embrapa possui um Plano de Execução (PEU) que expressa seus compromissos de pesquisa e desenvolvimento. Os 51 compromissos assumidos por esta Unidade (Embrapa Gado de Leite, 2021) e suas atualizações decorrem da análise de suas aderências às metas dos ODS, conforme avaliação pela equipe local da Rede ODS. Nesse particular, a predominância de esforços do PIBIC nos ODS 2 e 12 está diretamente associada a 28 compromissos previstos no Objetivo Estratégico “Sustentabilidade e Competitividade” do PEU. Os demais esforços, conforme mapeados pelas ACs, também possuem graus de alinhamento com o PEU, embora em menor frequência.

A inexistência de associação do PIBIC com sete ODS merece reflexão. Visto que o PIBIC Embrapa Gado de Leite é conduzido por dois processos seletivos anuais sem priorização de temas, a ampliação do número de ODS cobertos depende da espontânea participação e seleção de projetos que tenham interface com os ODS faltantes.

O PIBIC CNPq foi mais eclético nas interações com os ODS e o PIBIC Fapemig teve maior especificidade. Esse contraste é explicado pelos diferentes perfis dos orientadores e natureza dos projetos que abrigam os treinamentos.

Conclusões

As contribuições do PIBIC têm suas ACs coincidentes com objetivos finalísticos da Embrapa, por contemplar 10 ODS (1, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 12, 13 e 15), com destaque para “Fome zero e agricultura sustentável” (2) e “Consumo e produção responsáveis” (12). Para atender aos demais ODS (4, 5, 10, 11, 14, 16 e 17), será necessária a adesão de treinamentos em áreas correlatas. Os perfis de contribuição das fontes financiadoras são similares, porém com atendimento das ODS 9 e 15 somente pelo CNPq e da ODS 1 somente pela Fapemig. O CNPq teve maior frequência de associações de ACs em vista de seu maior número de bolsistas e publicações. Os CGs contemplados têm inserção ou interface com a pesquisa em gado de leite, auxiliando a conexão com os ODS. O número de autores é expressivo, evidenciando alto envolvimento da comunidade local com o PIBIC, fato que favorece o adensamento de ações voltadas para os ODS. O presente mapeamento evidencia a participação ativa do PIBIC em direção à Agenda 2030 e espera-se que essa informação contribua para ganhos incrementais neste programa.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), (CRD-00169-21, APQ 03630-23 e RED-00056-23) pelo apoio financeiro e aos assistentes Mário Baesso Tristão e Sebastião de Castro Evaristo pela colaboração.

Referências

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. **Árvore do Conhecimento**. Disponível em: <https://lattes.cnpq.br/web/dgp/arvore-do-conhecimento>. Acesso em: 6 jun. 2024.

EMBRAPA. Superintendência de Estratégia. **Plano Diretor da Embrapa 2024-2030**. Brasília, DF, 2024. 45 p. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1163372/1/PDE-2024-2030.pdf>. Acesso em: 04 de Jun. 2024.

EMBRAPA GADO DE LEITE. **Plano de Execução da Unidade 2021-2023**. Juiz de Fora, 2021. 76 p.

NAÇÕES UNIDAS. **Transformando nosso mundo: a Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável**. Washington, 2015. Traduzido pelo Centro de Informação das Nações Unidas para o Brasil. Disponível em: <https://brasil.un.org/sites/default/files/2020-09/agenda2030-pt-br.pdf>. Acesso em: 3 jun. 2024.

WORKSHOP DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA GADO DE LEITE, 27., 2023, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2024a. 138 p. (Embrapa Gado de Leite. Eventos Técnicos & Científicos, 2). Pibic/CNPq. Editor técnico: Leônidas Paixão Passos.

WORKSHOP DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA GADO DE LEITE, 28., 2023, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2024b. 69 p. (Embrapa Gado de Leite. Eventos Técnicos & Científicos, 1). Pibic/Fapemig. Editor técnico: Leônidas Paixão Passos.

Efeitos da suplementação de ácido oleico e ácido esteárico no meio de maturação in vitro sobre a atividade mitocondrial, estresse oxidativo e peroxidação lipídica em oócitos e células do *cumulus* em bovinos

Pedro Henrique Silva Ribeiro⁽¹⁾⁽⁶⁾, Alan Maia Borges⁽²⁾, Victor Felipe Sophia da Costa Neves⁽³⁾, Naiara Zoccal Saraiva⁽⁴⁾ e Clara Slade Oliveira⁽⁵⁾

⁽¹⁾Estagiário, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Docente, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. ⁽³⁾Bolsita (Pibic/CNPq), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾Pesquisadora, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁵⁾Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁶⁾e-mail: vetpedroribeiro@gmail.com.

Resumo- Este estudo avaliou o impacto da suplementação com ácido oleico e ácido esteárico no meio de maturação in vitro (MIV) sobre o estresse oxidativo e a peroxidação lipídica em oócitos e células do *cumulus* de bovinos. Utilizando três grupos de COCs (complexos *cumulus*-oócitos): Controle (TCM199 com 8% BSA), ácido esteárico (TCM199 com 8% BSA e ácido esteárico) e ácido oleico (TCM199 com 8% BSA e ácido oleico), foi observado que a suplementação com ácido oleico melhorou a atividade mitocondrial e reduziu a peroxidação lipídica nas células do *cumulus*, comparado aos grupos controle e ácido esteárico. Em contraste, não houve diferenças significativas na atividade mitocondrial ou na presença de espécies reativas de oxigênio nos oócitos entre os grupos. Esses resultados sugerem que o ácido oleico é eficaz na redução do estresse oxidativo e na peroxidação lipídica, beneficiando a qualidade oocitária.

Termos para indexação: lipídeos, peroxidação, ácido oleico, estresse oxidativo, células do *cumulus*.

Effects of Oleic Acid and Stearic Acid Supplementation in the In Vitro Maturation Medium on Oxidative Stress and Lipid Peroxidation in Bovine Oocytes and *Cumulus* Cells

Abstract- This study evaluated the impact of oleic acid and stearic acid supplementation in the in vitro maturation (IVM) medium on oxidative stress and lipid peroxidation in bovine oocytes and cumulus cells. Using three groups of cumulus-oocyte complexes (COCs): Control (TCM199 with 8% BSA), Stearic Acid (TCM199 with 8% BSA and stearic acid), and Oleic Acid (TCM199 with 8% BSA and oleic acid), it was observed that oleic acid supplementation improved mitochondrial activity and reduced lipid peroxidation in cumulus cells compared to the control and stearic acid groups. In contrast, there were no significant differences in mitochondrial activity or reactive oxygen species presence in oocytes between the groups. These results suggest that oleic acid effectively reduces oxidative stress and lipid peroxidation, benefiting oocyte quality.

Index terms: Lipids, peroxidation, oleic acid, oxidative stress, *cumulus* cells.

Introdução

Durante os estágios do desenvolvimento folicular, ocorrem alterações no perfil lipídico tanto no gameta quanto nas células do *cumulus* que o acompanham. Durante a “Maturação in vitro” (MIV), o perfil e a fonte lipídica impactam diretamente no perfil lipídico dos oócitos e sua competência de desenvolvimento (Borges; Vireque, 2019). Dado que os lipídios endógenos participam do metabolismo energético, alterações no conteúdo lipídico pelo uso de indutores artificiais do metabolismo lipídico pode ter impacto na competência dos oócitos (Sturmeijer et al., 2009).

A enzima esteroil-CoA desaturase 1 (stearoyl-CoA desaturase 1 - SCD1) é responsável pela conversão de ácido esteárico (AE) em ácido oleico (AO), e sua atividade é fundamental para a regulação do conteúdo lipídico celular. A expressão e a atividade da SCD1 têm sido associadas à competência oocitária e ao desenvolvimento embrionário (Aardema et al., 2011, 2017).

Leroy et al. (2005) demonstraram que a maturação in vitro de oócitos na presença de ácido palmítico e ácido esteárico, resultou em redução na taxa de fertilização e na competência oocitária. Todavia, Fayezi et al. (2018) determinaram que o ácido oleico, atua como componente metabólico direto e regulador do estresse oxidativo nos oócitos. Portanto, este ácido graxo monoinsaturado pode ter um impacto significativo na maturação de oócitos e desenvolvimento embrionário.

Com isso, fica evidente que a modulação lipídica pode aprimorar a qualidade oocitária. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar os efeitos da adição de precursores e produtos da enzima SCD1 (ácido esteárico e ácido oleico) ao meio de MIV sobre o estresse oxidativo de oócitos e células do *cumulus* em bovinos.

As informações contidas nesse documento contribuem para o alcance do Objetivo de Desenvolvimento Sustentável (ODS) de números 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

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Reprodução Animal da Embrapa Gado de Leite (Juiz de Fora, MG), sem a utilização de animais. Os complexos *cumulus*-oócitos (COCs) foram obtidos de ovários provenientes de abatedouro local. Os COCs foram recuperados de folículos medindo 2-8 mm por meio de aspiração folicular e seleção de estruturas com *cumulus* compacto não atrésico, com mais de duas camadas de células e citoplasma homogêneo.

Os COCs foram divididos aleatoriamente em três grupos para a maturação in vitro (MIV), em placas de quatro poços sem óleo mineral: Controle, cultivados em meio TCM199 suplementado com 8% BSA (Albumina Sérica Bovina); Ácido esteárico, cultivados em meio similar ao controle, acrescido de 25 μM ácido esteárico; e Ácido Oleico, cultivados em meio similar ao controle, acrescido de 200 μM ácido oleico.

As placas foram incubadas por 24 horas a 38,5 °C, 5% de CO₂ em ar atmosférico e alta umidade. Cada condição experimental foi replicada três vezes.

Às 23 horas de MIV, foram acrescentadas as sondas MitoTracker™ (1:100) e CellROX™ (1:100). A sonda BODIPY™ 581/591 C11 (3:100) no meio de maturação contendo os COCs

para os três grupos. Após 1 hora, os oócitos foram desnudados em solução de hialuronidase por pipetagens vigorosas.

Para cada estrutura, uma imagem foi gerada em cada canal e analisada no programa ImageJ, para quantificação da intensidade de fluorescência (pixels). Nos oócitos, foi selecionada a área total das células (comando ROI, region of interest). As médias de expressão de oxidação, peroxidação e área foram comparadas entre grupos utilizando o software Graphpad Instat por meio dos testes de kruskal wallis para dados não paramétricos, e as comparações múltiplas foram realizadas por meio do teste de Dwass-Steel-Critchlow-Fligner.

Para quantificação dos níveis de peroxidação lipídica, as intensidades de fluorescência foram analisadas e calculou-se a razão da intensidade no canal Texas Red® (lipídios não peroxidados) para a intensidade no canal GFP (lipídios peroxidados) de acordo com as orientações do fabricante, ou seja, a proporção de lipídios não peroxidados em relação aos lipídios peroxidados.

Resultados e discussão

A análise de atividade mitocondrial e estresse oxidativo foi realizada em triplicata com 192 oócitos (n=42-77 por grupo) e 630 células do *cumulus* (n= 210 por grupo). A análise de peroxidação foi realizada em triplicata com 327 oócitos (n=69-120 por grupo) e 663 células do *cumulus* (n= 214-226 por grupo). Os resultados das análises estão apresentados na Tabela 1.

Na avaliação dos oócitos, não houve diferença (p= 0,3) entre os grupos na avaliação da sonda MitoTracker, ou seja, a atividade mitocondrial dos oócitos não diferiu entre os grupos, bem como, não houve diferença (p= 0,056) entre os grupos na avaliação da sonda CellROX. Assim, não foram detectadas diferenças estatísticas nos níveis de estresse oxidativo entre os grupos. A área dos oócitos analisados também não diferiu (p=0,55), ou seja, todos os grupos apresentam oócitos com área semelhante. Nas análises de peroxidação lipídica, os grupos AE e AO apresentaram, respectivamente, razões 37,71% (p= 0,034) e 14,83% (p= 0,037) maiores em relação ao C. Quando comparados entre si o grupo AE e AO não apresentaram diferença estatística (p: 0,084). Uma razão alta de vermelho sobre verde sugere que há mais lipídios não peroxidados em comparação com os peroxidados, indicando um menor nível de peroxidação lipídica. Este resultado indica que, apesar da adição dos lipídeos aos meios de maturação, e conseqüentemente maior incorporação lipídica, houve menores índices de peroxidação quando comparado ao grupo controle, em teoria com menor quantidade de lipídeos.

Já na avaliação das células do *cumulus*, não houve diferença entre os grupos na avaliação da sonda CellROX (p:< 0.466), ou seja, não houve diferença significativa nos níveis de estresse oxidativo entre os grupos. Porém, houve diferença entre o grupo AO e os demais na avaliação da sonda MitoTracker, indicando uma maior atividade mitocondrial (p < 0.001) em células do *cumulus* do grupo Oleico quando comparado aos outros grupos, 36,16% em relação ao grupo AE e 34,27% em relação ao grupo C. O resultado da análise de peroxidação lipídica nas células do *cumulus* demonstra que as células do grupo AO apresentaram razão estatisticamente mais alta quando comparado aos grupos AE e C sendo 32,53% (p < 0,001) e 31,49% (p < 0.001) respectivamente. Assim, nas células do *cumulus*, a adição de Ácido Oleico proporcionou uma diminuição na peroxidação lipídica. Corroborando com os resultados de Aardema e colaboradores em 2011 que afirmam que o ácido oleico pode mitigar os efeitos negativos dos ácidos graxos saturados, promovendo uma melhor qualidade oocitária e potencial de desenvolvimento.

Tabela 1. Avaliações de atividade mitocondrial, estresse oxidativo e peroxidação lipídica realizadas em oócitos e células do *cumulus* de COCs maturados in vitro.

	Oócitos			Células do <i>cumulus</i>		
	Atividade Mitocondrial (Mitotracker)	Estresse Oxidativo (CellRox)	Peroxidação lipídica (Bodipy C11) ⁽¹⁾	Atividade Mitocondrial (Mitotracker)	Estresse Oxidativo (CellRox)	Peroxidação lipídica (Bodipy C11)*
Controle	16,678	13,576	3.79 ^A	26,955 ^B	33,509	1.06 ^B
Acido Esteárico	11,903	12,297	2.59 ^B	26,581 ^B	34,960	1.10 ^B
Ácido Oléico	17,309	12,289	1.52 ^B	36,192 ^A	35,565	1.52 ^A

⁽¹⁾Para peroxidação lipídica, o valor de mediana está apresentado. Letras diferentes nas colunas representam diferença estatística.

Conclusões

Oócitos maturados na presença de ácido oleico, produto da enzima SCD1, apresentaram aumento na atividade mitocondrial e redução na peroxidação lipídica das células do *cumulus*. Esta evidência sugere que o ácido oleico pode atuar como um agente protetor contra o estresse oxidativo e a peroxidação lipídica, fatores que comprometem a qualidade oocitária.

Agradecimentos

Ao apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil (CNPq) e à Fapemig pelo auxílio financeiro. À Embrapa Gado de Leite, à orientadora Clara Slade Oliveira e equipe de Reprodução Animal, pela oportunidade de estágio, o que me proporcionou obter experiência e aprendizado; ao pesquisador Alan Maia Borges (UFMG) pelo acompanhamento, orientação e apoio.

Referências

- AARDEMA, H.; VOS, P. L.; LOLICATO, F.; ROELEN, B. A.; KNIJN, H. M.; VAANDRAGER, A. B.; HELMS, J. B.; GADELLA, B. M. Oleic acid prevents detrimental effects of saturated fatty acids on bovine oocyte developmental competence. **Biology of Reproduction**, v. 85, n. 1, p. 62-69, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.088815>.
- AARDEMA, H.; VAN TOL, H. T. A.; WUBBOLTS, R. W.; BROUWERS, J. F. H. M.; GADELLA, B. M.; ROELEN, B. A. J. Stearoyl-CoA desaturase activity in bovine cumulus cells protects the oocyte against saturated fatty acid stress. **Biology of Reproduction**, v. 96, n. 5, p. 982-992, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.116.146159>.
- BORGES, E. D.; VIREQUE, A. Updating the impact of lipid metabolism modulation and lipidomic profiling on oocyte cryopreservation. **European Medical Journal**, v. 4, n. 1, p. 79-87, 2019. DOI: <http://doi.org/10.33590/emj/10310074>.
- FAYEZI, S.; LEROY, J. L. M. R.; GHAFARI NOVIN, M.; DARABI, M. Oleic acid in the modulation of oocyte and preimplantation embryo development. **Zygote**, v. 26, n. 1, p. 1-13, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1017/s0967199417000582>.
- LEROY, J. L. M. R.; VANHOLDER, T.; MATEUSEN, B.; CHRISTOPHE, A.; OPSOMER, G.; KRUIF, A. de; GENICOT, G.; VAN SOOM, A. Non-esterified fatty acids in follicular fluid of dairy cows and their effect on developmental capacity of bovine oocytes in vitro. **Reproduction**, v. 130, n. 4, p. 485-495, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1530/rep.1.00735>.
- STURMEY, R. G.; REIS, A.; LEESE, H. J.; MCEVOY, T. G. Role of fatty acids in energy provision during oocyte maturation and early embryo development. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 44, Suppl 3, p. 50-58, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01402.x>.

Sustentabilidade e relação de indicadores econômicos e ambientais em fazendas produtoras de leite no Brasil

Maria Souza Lima Arantes⁽¹⁾⁽⁵⁾, Glauco Rodrigues Carvalho⁽²⁾, Weslem Rodrigues Faria⁽³⁾, Vanessa Romário de Paula⁽⁴⁾ e Thierry Ribeiro Tomich⁽²⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic CNPq), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾Professor e pesquisador, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁵⁾E-mail: mariasembrapa@gmail.com.

Resumo — Objetivou-se com este trabalho analisar fazendas brasileiras produtoras de leite com base em indicadores econômicos e sustentáveis da atividade. Foram consideradas fazendas de Goiás, Minas Gerais, São Paulo e Paraná, e uma base de dados com 21 variáveis para os anos de 2020 e 2021. O estudo foi realizado a partir da implementação de dois métodos multivariados: a análise fatorial e a análise de agrupamentos. Os resultados da análise fatorial indicaram uma adequação de cinco fatores para o estudo, resumindo as relações sobre rebanho e produção, emissões de carbono e seus condicionantes, pegada total de carbono, sólidos do leite e outras fontes de emissão. A análise de agrupamentos identificou quatro grupos distintos. Um dos grupos englobou um perfil com maior nível de produção e receita, maiores valores de produtividade do rebanho e menores pegada de carbono e emissão de metano entérico. De forma contrária, foi identificado outro grupo de fazendas caracterizadas por alta pegada de carbono e emissão de metano, com nível inferior de produção e receita, associados aos menores valores de produtividade. Esses resultados vão ao encontro com a hipótese central deste trabalho e com a literatura estudada.

Termos para indexação: custo, emissões, pegada de carbono, produtividade, produção de leite, receita.

Sustainability in dairy farms in Brazil: an analysis of the relationship between economic and environmental indicators

Abstract — The objective of this study was to analyze Brazilian dairy farms based on economic and sustainable indicators of the activity. Farms from Goiás, Minas Gerais, São Paulo, and Paraná were considered, using a database with 21 variables for the years 2020 and 2021. The study employed two multivariate methods: factorial analysis and clustering analysis. Factorial analysis results indicated five factors relevant to the study, summarizing relationships concerning herd size and production, carbon emissions and their determinants, total carbon footprint, milk solids, and other emission sources. Clustering analysis identified four distinct groups. One group exhibited a profile with higher production levels and revenue, greater herd productivity, and lower carbon footprint and enteric methane emissions. Conversely, another group of farms was characterized by high carbon footprint and methane emissions, lower production levels and revenue, and associated with lower productivity values. These findings support the central hypothesis of this study and align with existing literature.

Index terms: carbon footprint, cost, emissions, milk production, productivity, revenue.

Introdução

A atividade pecuária ao redor do mundo é uma importante fonte de alimentos para a população mundial, mas tem sido cobrada em função de questões ambientais, seja pela emissão de gases de efeito estufa (GEE) na atmosfera ou pelo elevado nível de degradação de pastagens e solos (Gurgel; Laurenzana, 2016). Cerca de 60% das emissões totais de GEE da pecuária no mundo são provenientes dos gados para produção de leite ou carne. Em termos de produto, o leite é responsável por aproximadamente 30% das emissões de GEE da produção total de proteína animal, atrás apenas da produção de carne, que representa 67% do total. (FAO, 2023). Freitas e Araldi (2011) destacam que o aumento da eficiência na utilização dos recursos na produção é um dos principais caminhos para alcançar a sustentabilidade da pecuária, incluindo a redução de GEE. Dessa forma, as tecnologias que aumentam a produtividade do rebanho são importantes meios para reduzir o custo ambiental da atividade.

Dado o exposto, acredita-se que fazendas de maior produção, com nível maior de produtividade, com maiores recursos financeiros e mais tecnologia empregada apresentem níveis mais baixos de emissão de GEE. Isso decorre do fato de que fazendas com essas características são dotadas de maiores planejamentos organizacionais e um sistema de gestão mais eficiente que investe em produtos e tecnologias as quais retornam poucos efeitos negativos ao meio ambiente. Além disso, o fato de a fazenda possuir um rebanho mais produtivo tem por consequência menores emissões de GEE por quilograma de leite que está sendo produzido. Para testar a hipótese considerada, este trabalho se baseia nos dados econômicos e ambientais de fazendas produtoras de leite no Brasil. O principal objetivo é a caracterização da relação entre os indicadores ambientais das unidades e seus resultados de rentabilidade e produtividade. Para isso foram utilizados dois métodos de estatística multivariada: a análise fatorial exploratória e análise de cluster multivariado.

Material e métodos

A base de dados utilizada na pesquisa é oriunda da Embrapa, com dados de Avaliação de Ciclo de Vida (ACV) e pegada de carbono de sistemas de produção de leite de 307 fazendas nos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Goiás e Paraná. Para o ano de 2020 tiveram 17 fazendas, representando 6% do total, e para 2021 a base apresentou 290 fazendas, sendo, portanto, 94% das informações. O conjunto de dados contou com informações gerais das unidades produtoras tais como: latitude, longitude, clima, arquétipo e o tipo de manejo de dejetos utilizado. As variáveis utilizadas neste trabalho foram subdivididas em cinco grupos, sendo eles: Produção, Rebanho, Alimentação, Emissões de GEE e Resultados. As variáveis relativas ao quinto grupo de Resultados, que dizem respeito a indicadores financeiros das fazendas, foram calculadas a partir de métricas ou procedimentos adotados por outras fontes de dados e estudos para balizar a estimativa de custo com alimentação e de receita do leite. O cálculo do indicador de custo das fazendas utilizado no trabalho se baseou na alimentação do rebanho, mais especificamente em uma proxy de custos totais com o consumo de concentrado (milho e soja) utilizado como um dos principais alimentos para as vacas.

Para a análise deste trabalho foram consideradas informações sobre os preços do milho e da soja, sendo assim calculado o custo total com concentrado na alimentação dos rebanhos, multiplicando o preço do quilo concentrado pelo total consumido pelas fazendas no ano, também em quilos. Do mesmo modo, a última variável de Receita contou com dados do preço do leite ao produtor para os anos de 2020 e 2021, o qual foi relacionado com a produção total de leite.

Dentre os métodos de análise utilizados, primeiramente foi realizada a análise fatorial, que, de acordo com Hair et al. (2009), “é uma técnica de interdependência cujo propósito principal é definir a estrutura inerente entre as variáveis na análise”. Esse método reduz o número original de variáveis de forma que esses fatores independentes extraídos possam explicar, de modo simples e reduzido, as variáveis originais. Dessa forma, as variáveis presentes na base de dados serão definidas como uma combinação linear dos fatores comuns entre elas, os quais poderão explicar a variância de cada variável, mais um desvio que resume a variância total não representada por tais fatores (Hair et al., 2009).

A segunda etapa utilizada envolve técnicas de análise de cluster. Esta é, pela sua natureza, uma análise exploratória que visa identificar grupos distintos dentro de um grande conjunto de dados. Nessa perspectiva, esta análise oferece a oportunidade de resumir a quantidade de informações, identificar valores extremos (*outliers*) e fazer suposições sobre a relação entre as variáveis. O algoritmo a ser utilizado para agrupar os elementos, neste caso fazendas, em categorias semelhantes é baseado num conjunto de k variáveis associadas. Os critérios de agrupamento dos elementos baseiam-se na sua proximidade. Isso é medido usando uma métrica de similaridade. Neste contexto, utilizaremos a medida de distância euclidiana mais utilizada.

Resultados e discussão

Com base nas análises realizadas, os principais resultados confirmaram a hipótese central deste trabalho, de que fazendas mais produtivas também possuem níveis mais baixos de emissão de GEE.

Inicialmente, observou-se que as fazendas produzem em média 470 mil quilos de leite por ano e 1,68 quilogramas de dióxido de carbono equivalente por quilo de leite corrigido para gordura e proteína (kg CO₂ eq/kg FPCM). Os resultados da análise fatorial indicaram a criação de cinco fatores, nos quais as variáveis estão relacionadas entre si.

O primeiro fator, explica 39,15% da variância dos dados e foi denominado “rebanho e produção”, este resume aspectos da produção pecuária nas fazendas a partir de dados de rebanho, alimentação, custo e receita.

O segundo fator de “Emissões e condicionantes” foi, por sua vez, um dos mais importantes para a análise da emissão de GEE das fazendas e explica 14,66% da variância dos dados. As cargas fatoriais indicam que quanto menor a produtividade individual dos animais do rebanho, maiores serão as emissões de metano e também as emissões de GEE gerados pelos dejetos dos animais. Essa mesma interpretação vale para o percentual de vacas em lactação do rebanho, que se apresentou negativamente relacionada com o nível de emissões totais de metano e de emissões pelos dejetos. Dessa forma, esses resultados comprovam a hipótese de que aumentos na produtividade contribuem para a redução da emissão de GEE pela atividade leiteira, e conseqüentemente a sua pegada de carbono.

A seguir, o terceiro fator, “Pegada de carbono”, explicou apenas 8,76% da variância dos dados e é composto pelas variáveis de pegada de carbono e emissão de GEE pelos componentes da alimentação do rebanho com origem interna à fazenda, que apresentaram relação positiva entre si. O quarto fator, “Sólidos do leite”, com peso de 8,41% na explicação da variância dos dados, engloba positivamente as variáveis referentes à quantidade de sólidos presentes no leite, gordura e proteína, produzido pelas fazendas. Por fim, o quinto fator compreendeu “Outras fontes de emissão”, como é o caso das emissões pela alimentação do rebanho com origem externa à fazenda e as emissões por fontes de energia elétrica e transporte. Este fator representou 6,40% da variância dos dados.

Posteriormente, a análise de grupos permitiu combinar fazendas com base na similaridade entre elas, levando em consideração as 21 variáveis analisadas. Este método tende a agrupar itens semelhantes nos mesmos grupos, enquanto os diferentes grupos formados tendem a ser diferentes entre si. Os resultados destacaram dois grupos principais que atestaram a hipótese deste trabalho, os grupos 2 e 3. Seus resultados são destacados a seguir.

O segundo grupo da análise compreendeu apenas 10 fazendas da base de dados, sendo as unidades com maiores médias de produção, produtividade e receita do leite. Cinquenta e um por cento das vacas estão em lactação, e seu custo com concentrado é o maior entre os grupos. Contudo, o resultado mais relevante é quanto à intensidade das emissões de GEE, que resultam em pegada de carbono e emissão de metano entérico menores entre todos os outros grupos estudados. Por outro lado, o terceiro grupo de fazendas representou 184 unidades, e possui menor produção e também menor custo com alimentação e receita do leite. Sua produtividade seguiu a mesma tendência, é a menor entre elas visto que cada vaca produz apenas 16,6 litros de leite por dia. A quantidade de vacas em lactação no total do rebanho é de 45%. Contudo a sua emissão de GEE e de metano entérico, separadamente, são as maiores se comparadas a dos outros três grupos. Os resultados deste terceiro grupo atestaram novamente que, quanto menor a produtividade, maiores serão as emissões de metano e de pegada de carbono. A análise fatorial também apresentou essa conclusão, bem como a literatura já existente sobre o tema, como é o caso dos resultados do trabalho de Gurgel e Laurenzana (2016).

Conclusões

A hipótese fundamental dessa pesquisa é a de que fazendas mais produtivas, com maiores recursos financeiros e mais tecnologia empregada tendem a gerar menores emissões de GEE no meio ambiente. Esta hipótese foi confirmada com as análises realizadas, a análise fatorial mostrou este resultado no segundo fator de “Emissões e Condicionantes” e a análise de agrupamento, por meio dos grupos 2 e 3 atestou que fazendas com maiores produtividade, produção e receita possuem menor pegada de carbono. Portanto, com os resultados apresentados é iminente que sob condições de produções semelhantes às das fazendas mais produtivas, é possível melhorar a eficiência e sustentabilidade nas fazendas de leite. São fatores importantes o investimento em tecnologias e inovações, a adoção de sistemas de produção mais tecnificados, a consolidação da gestão da fazenda de forma a torná-la mais organizada e também o direcionamento de ações que contribuam para que o setor se torne mais competitivo. Assistência técnica e extensão rural são fundamentais neste processo, já que a pecuária de leite no Brasil é bastante heterogênea e composta por um número elevado de produtores.

Agradecimentos

Ao apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Brasil (CNPq). Parte do projeto 10.19.03.064.00.00 - Zoneamento pecuário de risco climático para produção de leite no Sudeste do Brasil. À Embrapa Gado de Leite pela oportunidade da bolsa recebida do Programa Pibic e pela disponibilidade dos dados utilizados neste estudo – projeto 20.22.00.189.00.00, o que me proporcionou obter experiência e aprendizado; ao pesquisador Glauco Rodrigues Carvalho pela orientação e apoio durante o período de estudos e treinamento e a todos os colaboradores e amigos da Embrapa que me acompanharam na empresa e contribuíram para minha formação.

Referências

FAO. **Pathways towards lower emissions**: a global assessment of the greenhouse gas emissions and mitigation options from livestock agrifood systems. Roma, 2023. Disponível em: <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/a06a30d3-6e9d-4e9c-b4b7-29a6cc307208/content>. Acesso em: 13 maio 2024.

FREITAS, V. O.; ARALDI, D. F. Impacto ambiental da emissão de gases pela pecuária. In: SEMINÁRIO INTERINSTITUCIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 16.; MOSTRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 14.; MOSTRA DE EXTENSÃO, 9., 2011, Cruz Alta. **Anais [...]**. Cruz Alta: Universidade de Cruz Alta, 2011.

GURGEL, A. C.; LAURENZANA, R. D. Desafios e oportunidades da agricultura brasileira de baixo carbono. In: VIEIRA FILHO, J. E. R.; GASQUES, J. G. (org.). **Agricultura, transformação produtiva e sustentabilidade**. Brasília, DF: Ipea, 2016. p. 346-366.

HAIR, J. F.; ANDERSON, R.; BABIN, B. **Multivariate data analysis**. 7th ed. New Jersey: Prentice Hall, 2009, p.96.

Efeito da raça e do sistema integrado pecuária-floresta na hipertermia em novilhas leiteiras durante o verão

Clara Slade Oliveira⁽¹⁾, Yara Beatriz Moreira⁽²⁾, Hugo Rocha Sabença Dias⁽²⁾, Victor Felipe Sophia da Costa Neves⁽³⁾⁽⁶⁾, Celio de Freitas⁽¹⁾, Naiara Zoccal Saraiva⁽⁴⁾, Alexandre Ortega Gonçalves⁽⁵⁾, Bruno Campos Carvalho⁽⁴⁾, Luiz Sergio de Almeida Camargo⁽⁴⁾ e Marcelo Dias Muller⁽⁴⁾

⁽¹⁾Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Estagiário, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾⁽⁶⁾Bolsista (Pibic/CNPq), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, ⁽⁴⁾Pesquisadores, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁵⁾Pesquisador, Embrapa Solos, Rio de Janeiro, RJ. ⁽⁶⁾E-mail: victorfelipecabofrio@hotmail.com.

Resumo — Uma abordagem promissora para mitigar os efeitos do estresse térmico na função reprodutiva é o uso de sistemas integrados pecuária-floresta (IPF). O objetivo deste estudo foi mensurar os benefícios do IPF na atenuação da hipertermia de novilhas Holandesas e Girolando, em comparação com pasto em pleno sol (PS). Foi coletada a temperatura vaginal em oito dias com limite de ITU acima de 78 (média de ITU 74.98), nos quais o sistema IPF atenuou ($p = 0.04$) a hipertermia nas raças Holandesa e Girolando. Em outros sete dias coletados, com limite de ITU abaixo de 77.9 (média de ITU 69.18), não houve efeito ($p = 0.29$) do sistema na hipertermia vaginal. Novilhas da raça Holandesa apresentaram hipertermia mais acentuada ($p < 0.001$) do que novilhas Girolando, nas duas condições de ITU. Após o experimento, os animais dos dois grupos (IPF e PS) foram acompanhados por dois dias com limite de ITU acima de 78. Não houve diferença ($p = 0.45$) entre as temperaturas coletadas entre os animais que passaram o verão no IPF ou PS, confirmando que os efeitos do sistema na atenuação da hipertermia, durante o experimento. A raça Holandesa continuou apresentando temperaturas mais altas ($p = 0.04$) do que animais Girolando 3/4. Em conclusão, o sistema ILF demonstrou resultados promissores na atenuação da hipertermia de novilhas leiteiras, em dias de alto ITU, podendo contribuir para a mitigação do estresse térmico durante o verão, especialmente em novilhas da raça Holandesa.

Termos para indexação: sistema integrado, estresse térmico, temperatura vaginal, Girolando.

Breed and integrated livestock-forestry system effects on dairy heifers hyperthermia during summer

Abstract — A promising approach to mitigate the effects of heat stress on reproductive function is the use of Integrated Livestock-Forest Systems (ILF). The objective of this study was to measure the benefits of ILF in mitigating hyperthermia in Holstein and Girolando heifers. Vaginal temperature was recorded on eight days with a THI (Temperature-Humidity Index) limit above 78 (average THI 74.98), during which the ILF system attenuated ($p = 0.04$) hyperthermia in both Holstein and Girolando breeds. On another seven days with a THI limit below 77.9 (average THI 69.18), there was no effect ($p = 0.29$) of the system on vaginal hyperthermia. Holstein heifers exhibited more pronounced hyperthermia ($p < 0.001$) compared to Girolando heifers under both THI conditions. After the experiment, animals from both ILF and conventional Full Sun (FS) systems left the ILF and FS pasture and were monitored for two days with THI limit above 78, at a conventional pasture. There was no difference ($p = 0.45$) in temperatures recorded between animals that spent the summer in ILF or FS, confirming the system's effects on attenuating hyperthermia during the experiment. Holstein breed heifers continued to exhibit higher temperatures ($p = 0.04$) than 3/4 Girolando animals. In conclusion, the ILF system demonstrated promising results in attenuating hyperthermia in dairy heifers on high THI days, potentially contributing to the mitigation of heat stress during summer, especially for Holstein heifers.

Index terms: integrated system, thermal stress, vaginal temperature, Girolando.

Introdução

O aquecimento global revela um futuro desafiador para a fertilidade de bovinos leiteiros, já que o estresse térmico afeta a função reprodutiva desses animais. O comprometimento da função reprodutiva está diretamente relacionado ao nível de estresse, podendo ser estimado indiretamente pelo índice de temperatura e umidade relativa do ar (ITU), como: leve (72 a 78); moderado (79 a 88) ou severo (89 a 98), para animais da raça Holandesa (Armstrong, 1994). O estresse térmico apresenta efeitos deletérios pronunciados e duradouros quando há o aumento das temperaturas corpóreas acima de 39.1 °C (HANSEN, 2019). A raça Girolando, entretanto, apresenta resistência maior ao calor, suportando temperaturas até 39.5 °C sem sofrer efeitos fisiológicos danosos evidentes (SOUZA-CÁCARES et al., 2019), porém seus efeitos sob a função reprodutiva não foram estimados. Uma estratégia para atenuar o ITU é alocar os animais em sistemas integrados, que reduzem a carga de radiação e a temperatura corporal dos animais, conferindo maior conforto térmico (NAVARINI et al., 2009). O objetivo desse estudo foi avaliar a ocorrência de hipertermia em novilhas Holandesas e Girolando 3/4 durante o verão, e como o sistema IPF pode atenuá-la.

Material e métodos

Caracterização do sistema — O estudo foi conduzido na Embrapa Gado de Leite, Campo Experimental Santa Mônica – Valença, RJ, no Núcleo de Pesquisa, Desenvolvimento, Inovação e Transferência de Tecnologia em Intensificação Sustentável na Agropecuária – NISA, em uma área de quatro hectares, com declividade média de 20%; dois hectares de sistema integrado pecuária-floresta (IPF, *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake x *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden, (clone 1407), plantadas em curvas de nível com espaçamento de 25 m entre linhas e 2 m dentro das linhas, 200 árvores por hectare) e 2 hectares de sistema de pastagem solteira, em pleno sol (PS). O período experimental foi de novembro de 2021 a março de 2022.

Desenho experimental — O experimento foi aprovado pela CEUA-EGL (7374130921). O ITU dos dias foi calculado com base em estação meteorológica INMET localizada fora do NISA, no CESM. A temperatura vaginal dos animais mantidos nos sistemas (n= 8 Holandesas e 8 Girolando ¾ em cada sistema, IPF e PS), no verão 2021–2022, foi coletada em 15 dias espaçados ao longo do verão. Ao final do ensaio, 2 dias adicionais foram coletados com os animais fora dos sistemas, para confirmar que os efeitos observados estavam relacionados ao sistema, e não ao grupo de animais utilizado.

Coleta de temperatura vaginal e análise dos dados — A temperatura vaginal foi coletada a cada 15 minutos, com implantes intravaginais de silicone contendo sensor iBotton data logger- DS1921H-F5# Thermochron (Maxim Integrated, San Jose, CA, USA). Para cada dia analisado foi gerado um gráfico e sua área acima da temperatura 39.1 °C calculada. Os valores de área do gráfico foram transformados em logaritmo para atingirem a distribuição normal. Os dados foram comparados utilizando modelo de regressão linear mista (lmer), ajustado com os efeitos fixos (sistema e raça) e aleatórios (animal e dia) com a verossimilhança de um modelo reduzido. Foi utilizado o Software R, pacotes: pROC, tidy, ggplot2, dplyr, graphics, tidyverse, ez, reshape2, emmeans, MASS, lme4 e lmerTest.

Resultados e discussão

O experimento foi iniciado 24 meses após plantio, quando a ocupação florestal (AB/ha) era de 1.39 m²/ha (início do verão) a 2.14 m²/ha (final do verão). Dos 15 dias coletados,

oito dias apresentaram limite de ITU acima de 78 (média de ITU 74.98 ± 4.50) (Figura 1.A), e sete dias apresentaram limite de ITU abaixo de 77.9 (média de ITU 69.18 ± 3.56) (Figura 1.B). Não houve interação ($p > 0.05$) entre os fatores raça e sistema. Observamos que, em dias de ITU limítrofe acima de 78, o sistema IPF atenuou ($p = 0.04$) a hipertermia nos animais (Figura 2.I.A e 2.I.B), e a hipertermia ocorreu mais intensamente ($p < 0.001$) em animais da raça Holandesa. As médias e desvio padrão de temperatura vaginal nos oito dias analisados foram G-PS: 39.10 ± 0.55 , G-IPF: 39.05 ± 0.50 , H-PS: 39.49 ± 0.73 , H-IPF: 39.33 ± 0.71 . As médias e erro padrão de área do gráfico acima de 39.1°C para os dias analisados foram G-PS: 19.80 ± 3.36 , G-IPF: 15.69 ± 2.20 , H-PS: 46.27 ± 5.41 , H-IPF: 35.07 ± 4.26 .

No entanto, em dias de ITU limítrofe abaixo de 77.9 (Figura 2.II.A e 2.II.B), não houve efeito do sistema ($p = 0.29$). Novilhas da raça Holandesa apresentaram hipertermia mais acentuada ($p < 0.001$) do que novilhas Girolando, também nessas condições de ITU. As médias e desvio padrão de temperatura vaginal nos sete dias analisados foram G-PS: 38.88 ± 0.38 , G-IPF: 38.89 ± 0.44 , H-PS: 39.18 ± 0.51 , H-IPF: 39.06 ± 0.47 . As médias e erro padrão de área do gráfico acima de 39.1°C para os dias analisados foram G-PS: 6.79 ± 2.00 , G-IPF: 8.18 ± 2.34 , H-PS: 23.58 ± 7.13 , H-IPF: 14.61 ± 3.02 .

No ensaio pós-experimento, quando os animais dos grupos IPF e PS foram realocados em condições similares, em pleno sol (média de ITU 74.08 ± 5.01), não houve diferença ($p = 0.45$) entre os grupos. Este resultado confirma que as diferenças observadas eram devidas às condições de sombra no sistema IPF, durante o experimento. As temperaturas vaginais de fêmeas da raça Holandesa se mantiveram maiores ($p = 0.04$) do que as das fêmeas Girolando. Não houve interação entre os fatores raça e sistema ($p = 0.98$). As médias e desvio padrão de temperatura vaginal nos dois dias analisados foram G-PS: 30.74 ± 4.61 , G-IPF: 36.28 ± 2.89 , H-PS: 44.71 ± 8.26 , H-IPF: 53.04 ± 12.15 . As médias e desvio padrão de área do gráfico acima de 39.1°C para os dias analisados foram G-PS: 6.79 ± 2.00 , G-IPF: 8.18 ± 2.34 , H-PS: 23.58 ± 7.13 , H-IPF: 14.61 ± 3.02 .

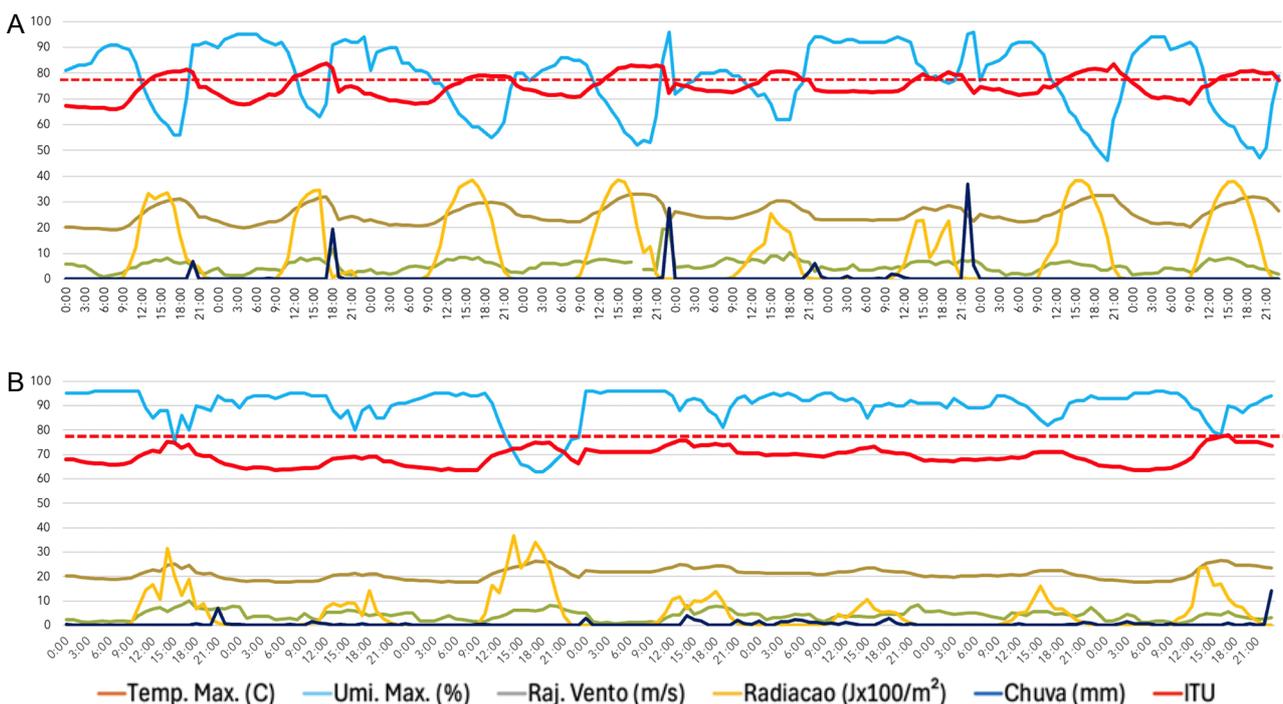


Figura 1. Dados climáticos dos dias estudados. I. Dias com ITU limite acima ou igual a 78. II. Dias com ITU limite abaixo de 78.

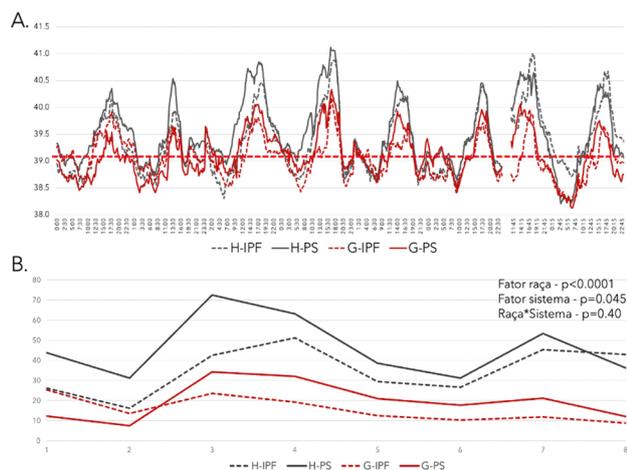
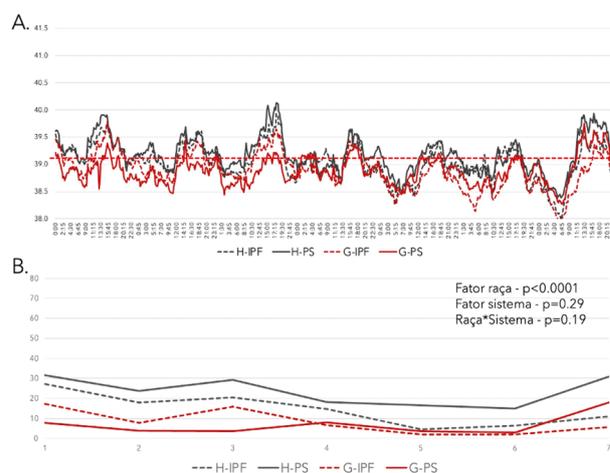
I. Dias de ITU limítrofe ≥ 78 II. Dias de ITU limítrofe < 78 

Figura 2. Temperatura vaginal (A) e área do gráfico acima de 39.1 °C (B) para novilhas Girolando 3/4 e Holandesas mantidas durante o verão em sistema IPF ou Pleno Sol, em dias de limite de ITU acima ou igual 78 (I) e abaixo de 78 (II).

Conclusões

A raça Holandesa foi mais exposta a temperaturas vaginais deletérias para a função reprodutiva ($> 39.1^{\circ}\text{C}$) do que a raça Girolando, conforme esperado. Em dias nos quais o ITU excedeu o limite de 78, em ambas as raças, animais mantidos no Sistema IPF sob a ocupação florestal de 1.39 m^2/ha - 2.14 m^2/ha apresentaram atenuação da hipertermia em relação aos animais mantidos no Pleno Sol. Não foi observado esse efeito nos dias em quais o ITU não atingiu 78.

Agradecimentos

Ao apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – Brasil, e Embrapa 20.20.03.040.00.00 e 20.22.06.007.00.00. Agradecemos à equipe do Laboratório de Reprodução Animal, Campo Experimental Santa Mônica e Núcleo de Intensificação Sustentável na Agropecuária pelo acompanhamento, orientação e apoio durante o período de estudos e treinamento.

Referências

ARMSTRONG, D. V. Heat stress interaction with shade and cooling. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 7, p. 2044-2050, 1994.

HANSEN, Peter J.; Reproductive physiology of the heat-stressed dairy cow: implications for fertility and assisted reproduction. **Animal Reproduction**, v. 16, n. 3, p. 497-507, 2019.

NAVARINI, F. C.; KLOSOWSKI, E. S.; CAMPOS, A. T.; TEIXEIRA, R. A.; ALMEIDA, C. P. Thermal comfort of nelore bovine in pasture under several lighting conditions. **Engenharia Agrícola**, v. 29, n. 4, p. 508-517, 2009.

SOUZA-CÁCARES, M. B.; FIALHO, A. L. L.; SILVA, W. A. L.; CARDOSO, C. J. T.; PÖHLAND, R.; MARTINS, M. I. M.; MELO-STERZA, F. A. Oocyte quality and heat shock proteins in oocytes from bovine breeds adapted to the tropics under different conditions of environmental thermal stress. **Theriogenology**, v. 130, p. 103-110, 2019.

Hipertermia em novilhas leiteiras no verão e efeitos atenuantes do sistema integrado pecuária-floresta em diferentes estádios de crescimento

Victor Felipe Sophia da Costa Neves⁽¹⁾⁽⁶⁾, Hugo Rocha Sabença Dias⁽²⁾, Celio de Freitas⁽³⁾, Marcelo Dias Muller⁽⁴⁾, Naiara Zoccal Saraiva⁽⁴⁾, Alexandre Ortega Gonçalves⁽⁵⁾, Bruno Campos Carvalho⁽⁴⁾, Luiz Sergio de Almeida Camargo⁽⁴⁾ e Clara Slade Oliveira⁽³⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/CNPq.), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Estagiário, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾Pesquisadores, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁵⁾Pesquisador, Embrapa Solos, Rio de Janeiro, RJ. ⁽⁶⁾E-mail: victorfelipecabofrio@hotmail.com.

Resumo — O uso de sistemas integrados pecuária-floresta (IPF) pode aumentar o conforto térmico de bovinos, especialmente no verão. Entretanto, poucas informações estão disponíveis a respeito do estágio de crescimento das árvores no sombreamento e na temperatura dos animais. O objetivo deste estudo foi verificar os efeitos do IPF na atenuação da hipertermia de novilhas Girolando 3/4, acompanhando o resultado por três verões subsequentes conforme o crescimento das árvores (24, 36 e 48 meses após a implantação do sistema), em comparação com pasto em pleno sol (PS). No primeiro ano analisado (2º ano de crescimento do sistema), as árvores apresentavam ocupação florestal (AB por ha) de 1.39 m²/ha (início do verão) a 2.14 m²/ha (final do verão), e nos oito dias analisados (ITU 74.98±4.50) não houve redução (p igual 0.47) da hipertermia dos animais no IPF. No 3º ano de crescimento, a ocupação florestal foi de 3.14 m²/ha (início do verão) a 4.18 m²/ha (final do verão), e nos 11 dias analisados (ITU 74.98±4.90) os efeitos atenuantes (p igual 0.06) da hipertermia foram estatisticamente significativos a nível de significância de 10%, no IPF. No 4º ano de crescimento, a ocupação florestal foi de 5.33 m²/ha (início do verão) a 6.60 m²/ha (final do verão), e nos 12 dias coletados (ITU 75.74±5.08) não houve efeito do IPF na temperatura vaginal dos animais (PS: 7.16±1.90, IPF: 9.55±2.27, p igual 0.46). Somado a outros dados, esse resultado pode contribuir para recomendações práticas de desbaste dos sistemas integrados.

Termos para indexação: sistema integrado, estresse térmico, temperatura vaginal, Girolando.

Hyperthermia in dairy heifers during summer and attenuating effects of an integrated livestock-forestry system in distinct stages of growth

Abstract — The use of integrated livestock-forest systems (ILF) can increase the thermal comfort of cattle, especially in the summer. However, there is little information available regarding the growth stage of the trees in shading and animal temperature. The objective of this study was to verify the effects of ILF in mitigating hyperthermia in Girolando heifers, monitoring the results over three subsequent summers as the trees grew (24, 36, and 48 months after system implementation), compared to pasture in full sun (FS). In the first year analyzed, the 2nd year of system growth, the trees had a forest occupation (AB per ha) of 1.39 m² per ha (beginning of summer) to 2.14 m² per ha (end of summer), and in the eight days analyzed (THI 74.98±4.50) there was no reduction (p equal 0.47) in animal hyperthermia in the ILF. In the 3rd year of growth, the forest occupation was 3.14 m² per ha (beginning of summer) to 4.18 m² per ha (end of summer), and in the 11 days analyzed (THI 74.98±4.90), the attenuating effects (p=0.06) of hyperthermia were statistically significant at a 10% significance level in the ILF. In the 4th year of growth, the forest occupation was 5.33 m² per ha (beginning of summer) to 6.60 m² per ha (end of summer), and in the 12 evaluated days (THI 75.74±5.08), there was no effect of ILF on the vaginal temperature of the animals

(PS: 7.16 ± 1.90 , IPF: 9.55 ± 2.27 , p igual 0.46). Combined with other data, this result may contribute to practical recommendations for managing integrated systems.

Index terms: integrated system, thermal stress, vaginal temperature, Girolando.

Introdução

O aquecimento global aponta um futuro desafiador para a fertilidade em bovinos leiteiros, já que o sistema reprodutivo apresenta efeitos deletérios pronunciados e duradouros quando há o aumento das temperaturas corpóreas acima de $39,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Hansen, 2019). Além dos serviços ecossistêmicos da agrofloresta e seus inúmeros benefícios ambientais, os sistemas integrados pecuária-floresta (IPF) podem mitigar os efeitos do estresse térmico nos animais. Os sistemas IPF são alternativas para atenuar o índice de temperatura-umidade (ITU), um indicador amplamente utilizado para o estresse térmico (Armstrong, 1994), reduzindo a carga de radiação no pasto (Navarini et al., 2009). O efeito da sombra diminui a temperatura corporal, aumenta o conforto térmico e o desempenho (Navarini et al., 2009; Paciullo et al., 2014) em bovinos. Para a recomendação de manejo de novilhas leiteiras no sistema IPF, faz-se necessário entender o benefício da sombra em função da dinâmica de crescimento das árvores. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a ocorrência de hipertermia em novilhas Girolando 3/4 durante o verão, e como o sistema IPF pode atenuá-la em seus diferentes estádios de crescimento. Assim, comparamos os resultados durante três verões consecutivos a partir da implementação do Núcleo de Intensificação Sustentável na Agropecuária, no Campo Experimental Santa Mônica, de acordo com o crescimento das árvores, para entender a variação encontrada ao longo dos anos.

O conteúdo desse documento 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 1 – “Erradicação da pobreza: Acabar com a pobreza em todas as suas formas, em todos os lugares”; 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

Caracterização do sistema - O estudo foi conduzido na Embrapa Gado de Leite, Campo Experimental Santa Mônica – Valença, RJ, no Núcleo de Pesquisa, Desenvolvimento, Inovação e Transferência de Tecnologia em Intensificação Sustentável na Agropecuária – NISA, em uma área de quatro hectares, com declividade média de 20%; dois hectares de sistema integrado pecuária-floresta (IPF, *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake x *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden, (clone 1407), plantadas em curvas de nível com espaçamento de 25m entre linhas e 2m dentro das linhas, 200 árvores por hectare) e dois hectares de sistema de pastagem solteira, em pleno sol (PS). O período experimental foi de novembro de 2021 a março de 2024.

Desenho experimental - O experimento foi aprovado pela CEUA-EGL (7374130921). O ITU dos dias foi calculado com base em estação meteorológica INMET localizada fora do NISA, no CEM. Três ensaios foram conduzidos para coletar a temperatura vaginal dos animais mantidos nos sistemas. No ensaio 1 (n = 8 novilhas Girolando 3/4 em cada sistema, IPF e PS), conduzido no verão 2021–2022, os dados foram coletados em oito dias

(11/12, 12/12, 21/12, 22/12, 05/01, 06/01, 22/01 e 23/01). No ensaio 2, o sistema foi acompanhado no verão de 2022-2023 (n= 5 novilhas Girolando 3/4 em cada sistema, IPF e PS), em 11 dias (23/02, 24/02, 25/02, 26/02, 27/02, 28/02, 01/03, 02/03, 03/03, 04/03, 05/03). No ensaio 3, conduzido no verão de 2023-2024 (n = 5-6 novilhas Girolando 3/4 em cada sistema, IPF e PS), os dados foram coletados em 12 dias (23/12, 13/01, 14/01, 15/01, 16/01, 17/01, 18/01, 10/02, 11/02, 12/02, 13/02, 14/02). Em todos os dias coletados, o ITU superou o limite de 78.

Coleta de temperatura vaginal e análise dos dados - A coleta da temperatura vaginal foi realizada a cada 15m, por implantes intravaginais de silicone contendo sensor iBotton data logger- DS1921H-F5# Thermochron (Maxim Integrated, San Jose, CA, USA) envolvido com parafilm. Para cada dia analisado foi gerado um gráfico e sua área acima da temperatura 39.1 °C calculada. Os valores de área do gráfico foram transformados em logaritmo para atingirem a distribuição normal. Os dados foram comparados utilizando modelo de regressão linear mista (lmer), ajustado com os efeitos fixos (sistema e raça) e aleatórios (animal e dia) com a verossimilhança de um modelo reduzido. Foi utilizado o Software R, pacotes: pROC, tidy, ggplot2, dplyr, graphics, tidyverse, ez, reshape2, emmeans, MASS, lme4 e lmerTest.

Resultados e discussão

No ensaio 1, realizado no 2º ano de crescimento do sistema, com ocupação florestal (AB por ha) de 1.39 m² por ha (início do verão) a 2.14 m² por ha (final do verão), foram coletados oito dias com limite de ITU acima de 78 (média de ITU 74.98 ± 4.50) (Figura 1.I). Observamos que o sistema IPF não atenuou (p igual 0.47) a hipertermia nos animais (Figura 2.I.A e 2.II.A). As médias de área do gráfico acima de 39.1°C para os dias analisados foram PS:19.80 ± 3.36 e IPF:15.69 ± 2.20. As médias ± desvio padrão de temperatura vaginal nos oito dias analisados foram PS:39.10±0.55 e IPF:39.05 ± 0.50.

No ensaio 2, realizado no 3º ano de crescimento do sistema, a ocupação florestal foi de 3.14 m² por ha (início do verão) a 4.18 m² por ha (final do verão), foram coletados 11 dias com limite de ITU acima de 78 (média de ITU 74.98 ± 4.90) (Figura 1.II). Os efeitos atenuantes da hipertermia foram estatisticamente significativos a nível de significância de 10%, no IPF (PS:24.90 ± 4.85, IPF:10.90 ± 2.63, p = 0.06) (Figura 2.I.B e 2.II.B). As médias ± desvio padrão de temperatura vaginal nos 11 dias analisados foram PS:39.19 ± 0.41 e IPF:38.96 ± 0.53.

No ensaio 3, conduzido no 4º ano de crescimento do sistema (verão de 2023-2024), a ocupação florestal foi de 5.33 m² por ha (início do verão) a 6.60 m² por ha (final do verão), e os dias coletados apresentaram limite de ITU acima de 78 (média de ITU 75.74 ± 5.08) (Figura 1.III). Observamos que o sistema IPF não atenuou a hipertermia em animais Girolando 3/4 (PS: 7.16±1.90, IPF: 9.55±2.27, p igual 0.46) (Figura 2.I.C e 2.II.C). As médias ± desvio padrão de temperatura vaginal nos 12 dias analisados foram PS:38.68±0.53 e IPF:38.71±0.55.

Os resultados apresentados indicam que a ocupação florestal acima do encontrado aos 36 meses podem ser excessivos e especulamos que possivelmente ocasionou aumento da umidade, afetando a regulação da temperatura corpórea. Entretanto, é importante ressaltar que as temperaturas vaginais no ensaio 3 foram numericamente inferiores, até no pasto em pleno sol, por motivos não controlados neste experimento. Análises do microclima e condições do sistema podem auxiliar a entender o ocorrido, e definir recomendações para a redução desta ocupação, por meio de desbastes dos sistemas IPF para recria de novilhas em áreas montanhosas.

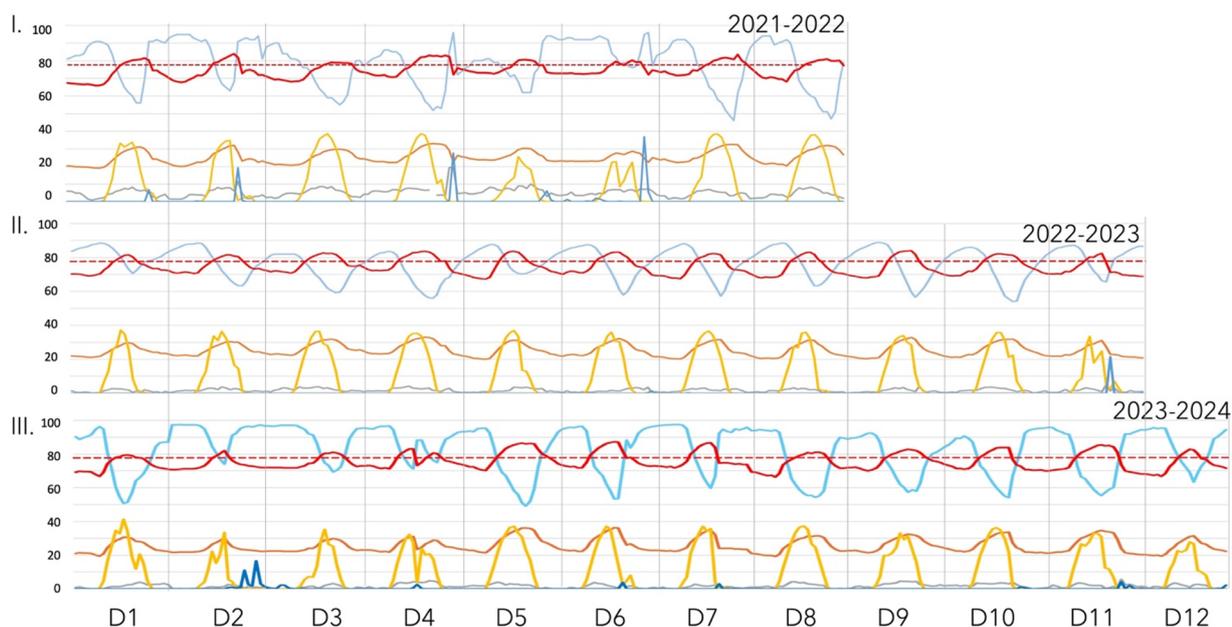


Figura 1. Dados climáticos dos dias (D) estudados, durante os três verões de acompanhamento do crescimento do sistema IPF. I. Verão 2021-2022, 24 meses após implantação. II. Verão 2022-2023, 36 meses após implantação. III. Verão 2023-2024, 48 meses após implantação.

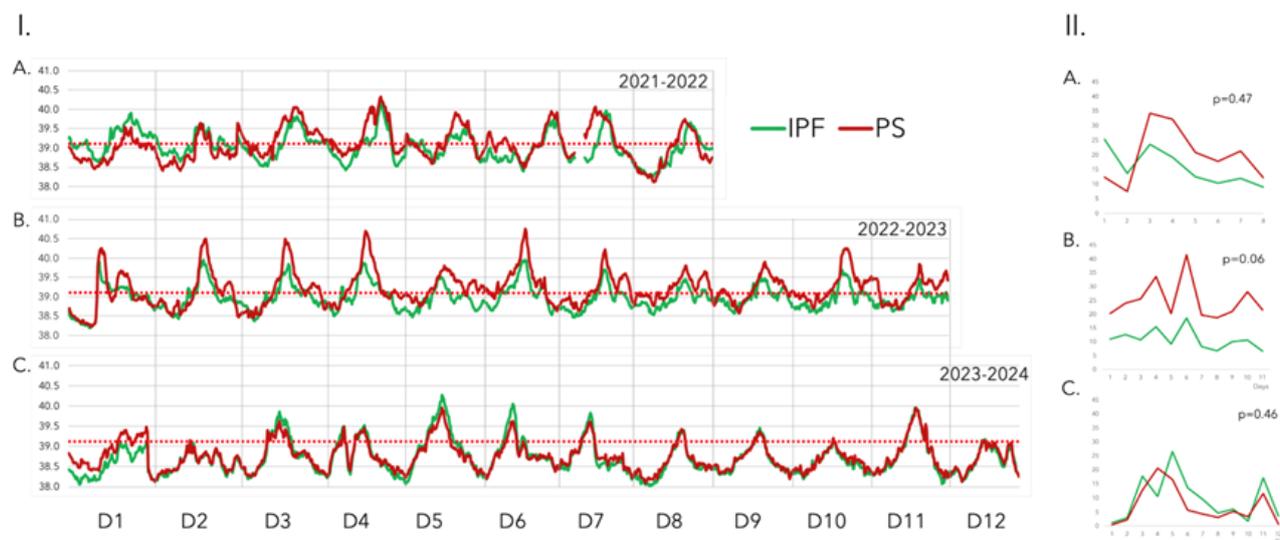


Figura 2. Temperatura vaginal (I) e área do gráfico acima de 39.1 °C (II) para novilhas Girolando $\frac{3}{4}$ mantidas em sistema IPF ou Pleno Sol. A. Verão 2021-2022, 24 meses após implantação; B. Verão 2022-2023, 36 meses após implantação; C. Verão 2023-2024, 48 meses após a implantação.

Conclusões

A comparação de resultados obtidos nos três anos do sistema sugere maior benefício para a atenuação da hipertermia dos animais no 3º ano de crescimento do sistema, com ocupação florestal entre 3.14 m² por ha a 4.18 m² por ha). Ressaltamos que a comparação apresentada deve ser interpretada com cuidado, devido ao baixo número de animais estudados.

Agradecimentos

Ao apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – Brasil, e Embrapa 20.20.03.040.00.00 e 20.22.06.007.00.00. Agradecemos à equipe

do LRA, CESH e NISA pelo acompanhamento, orientação e apoio durante o período de estudos e treinamento.

Referências

ARMSTRONG, D. V. Heat stress interaction with shade and cooling. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 7, p. 2044-2050, 1994.

HANSEN, Peter J.; Reproductive physiology of the heat-stressed dairy cow: implications for fertility and assisted reproduction. **Animal Reproduction**, v. 16, n. 3, p. 497-507, 2019.

NAVARINI, F. C.; KLOSOWSKI, E. S.; CAMPOS, A. T.; TEIXEIRA, R. A.; ALMEIDA, C. P. Thermal comfort of nelore bovine in pasture under several lighting conditions. **Engenharia Agrícola**, v. 29, n. 4, p. 508-517, 2009.

PACIULLO, D.S.C.; PIRES, M.F.A.; AROEIRA, L.J.M.; MORENZ, M.J.F.; MAURÍCIO, R.M.; GOMIDE, C.A.M.; SILVEIRA, S.R. Sward characteristics and performance of dairy cows in organic grass-legume pastures shaded by tropical trees. **Animal**, v. 8, p. 1264-1271, 2014.

Efeito do estresse térmico em vacas holandesas de primeira lactação no Sudeste do Brasil

Pâmella Ferreira da Silva⁽¹⁾⁽⁴⁾, Mário Luiz Santana Júnior⁽³⁾, Claudio Napolis Costa⁽²⁾, Maria de Fatima Ávila Pires⁽²⁾, Frank Angelo Tomita Bruneli⁽²⁾, Marcos Cicarini Hott⁽²⁾, Maria Gabriela Campolina Diniz Peixoto⁽²⁾ e Ricardo Guimarães Andrade⁽²⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic CNPq.), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Pesquisadores, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾Docente, Universidade Federal de Rondonópolis, Rondonópolis, MT. ⁽⁴⁾E-mail: pamella.ferreira@engenharia.ufff.br.

Resumo — O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de leite, sendo o Sudeste uma das regiões de destaque nacional nesse setor. Este estudo objetivou avaliar o impacto do estresse térmico em vacas holandesas de primeira lactação no Sudeste do Brasil. Dados meteorológicos referentes à temperatura e umidade relativa do ar, no período de janeiro de 2003 a dezembro de 2023, foram utilizados para estimar o Índice de Temperatura e Umidade (ITU), a perda de produção de leite (PPL) e a anomalia padronizada da perda de produção de leite (APPL). Os mapas de PPL indicaram predominância de perdas menores que 1,0 kg/vaca/dia entre os meses de maio e agosto. De setembro a março, observa-se predominância média de perdas entre 2,0 kg/vaca/dia e 4,0 kg/vaca/dia, sendo que perdas mais elevadas (PPL > 4,0 kg/vaca/dia) foram observadas no Norte e Nordeste de Minas Gerais, Norte do Espírito Santo e no Rio de Janeiro. Conclui-se, a partir dos mapas mensais de APPL, que em 2023 ocorreu predominância de perdas de produção entre a média e abaixo da média histórica ou do normal esperado.

Termos para indexação: bem-estar animal, produção leiteira, risco climático, zoneamento.

Effect of heat stress on first lactation Holstein cows in Southeast Brazil

Abstract — Brazil is the world's third largest producer of milk, and the Southeast is one of the country's leading regions in this sector. This study aimed to evaluate the impact of heat stress on first-lactation Holstein cows in Southeastern Brazil. Meteorological data on temperature and relative humidity from January 2003 to December 2023 were used to estimate the Temperature and Humidity Index (ITU), the milk production loss (PPL), and the standardized anomaly of milk production loss (APPL). The PPL maps indicate a predominance of losses of up to 1.0 kg per cow per day between the months of May and August. From September to March, there was an average predominance of losses between 2.0 and 4.0 kg per cow per day, with some highest losses (PPL > 4.0 kg/cow/day) being observed in the North and Northeast of Minas Gerais, North of Espírito Santo, and Rio de Janeiro. The monthly APPL maps indicated a predominance of production losses between the average and below the historical average in 2023.

Index terms: animal welfare, dairy production, climate risk, zoning.

Introdução

A pecuária é uma atividade altamente influenciada por fatores climáticos, pois, à medida que o binômio temperatura e umidade relativa do ar ultrapassa a zona de conforto térmico dos bovinos, a suscetibilidade ao estresse térmico é estabelecida e reações inespecíficas são desencadeadas (Silva et al., 2012; Daltro et al., 2020). Em qualquer fase da vida dos bovinos e principalmente durante a lactação, o estresse térmico pode causar redução no consumo de forragem, aumento dos requerimentos de manutenção, hipertermia, aumento da frequência respiratória, redução da fertilidade, da porcentagem de gordura, da produção leiteira e do aumento da contagem de células somática (Baccari Júnior et al., 2001; Pereira, 2005; Magalhães et al., 2006). O tempo de exposição dos animais aos agentes estressores influencia na sua capacidade de equilibrar a produção e a perda de calor corporal, sendo o aumento da suscetibilidade dependente da raça, do padrão e do estado fisiológico. Os agentes estressores podem afetar mais os animais de alta produção, pois a produção de calor metabólico aumenta à medida que aumenta a produção leiteira. O índice de temperatura e umidade (ITU) é um dos indicadores mais utilizados na avaliação dos efeitos de diferentes níveis de estresse por calor sobre os animais, tanto em ambientes confinados quanto em regime de pastejo. Diante disso, objetivou-se avaliar o efeito do estresse térmico na produção leiteira de vacas holandesas de primeira lactação no Sudeste do Brasil.

O conteúdo desse documento 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 1 – “Erradicação da pobreza: Acabar com a pobreza em todas as suas formas, em todos os lugares”; 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 dados de temperatura do ar e umidade relativa do ar provenientes do Instituto Nacional de Meteorologia (Inmet), obtidos de estações meteorológicas automáticas localizadas na região Sudeste do Brasil, no período de janeiro de 2003 a dezembro de 2023. De posse dos dados, estimou-se o ITU, aplicando a equação proposta por Bunffington et al. (1977):

$$ITU = 0,8 \times Tb_s + UR \times \frac{(Tb_s - 14,3)}{(100 + 46,3)}$$

Em que: Tb_s é a temperatura de bulbo seco, °C; UR é a umidade relativa do ar, %; e ITU é o índice adimensional de temperatura e umidade. Posteriormente, aplicou-se a equação de estimativa da perda de produção de leite (PPL) de vacas holandesas na primeira lactação:

$$PPL = -(0,0005854 \times ITU^3 - 0,09911 \times ITU^2 + 5,54373 \times ITU - 102,24901)$$

Para a estimativa da anomalia padronizada da perda de produção de leite (APPL), utilizou-se a equação (Adaptado de Leivas et al., 2014):

$$APPL = \frac{(PPL_{mês} - \overline{PPL_{histórico}})}{\sigma}$$

Em que: $PPL_{\text{mês}}$ é a perda de produção de leite no mês de interesse. Neste estudo, calculou-se para os meses de janeiro a dezembro de 2023.

$\overline{PPL}_{\text{histórico}}$ se refere à média histórica de PPL (2003 a 2023) no mês de interesse; σ é o desvio-padrão da PPL no mês de interesse. Na Tabela 1 visualizam-se os intervalos de APPL e sua categorização indicativa.

Tabela 1. Intervalos de classes dos valores de anomalia padronizada da perda de produção de leite (APPL) e sua correspondente categorização indicativa.

Valores de APPL	APPL $\leq -2,0$	$-2,0 < APPL \leq -1,5$	$-1,5 < APPL \leq -1,0$	$-1,0 < APPL \leq -0,5$	$-0,5 < APPL \leq 0,5$	$0,5 < APPL \leq 1,0$	$1,0 < APPL \leq 1,5$	$1,5 < APPL \leq 2,0$	APPL $\geq 2,0$
Categorização	Muito abaixo do normal	Abaixo do normal	Verdadeiramente abaixo do normal	Ligeiramente abaixo do normal	Normal	Ligeiramente acima do normal	Verdadeiramente acima do normal	Acima do normal	Muito acima do normal

Resultados e discussão

A Figura 1 mostra os mapas mensais da perda de produção de leite (PPL) na região Sudeste do Brasil. Nota-se que, entre os meses de maio (Figura 1E) a agosto (Figura 1H), há predominância de perdas abaixo de 1,0 kg/vaca/dia (classe azul), época de clima mais ameno no Sudeste. Em contrapartida, nos meses de janeiro (Figura 1A), fevereiro (Figura 1B), março (Figura 1C), setembro (Figura 1I), outubro (Figura 1J), novembro (Figura 1L) e dezembro (Figura 1M), predominaram valores médios de perdas entre 2,0 kg/vaca/dia e 4,0 kg/vaca/dia, sendo que em algumas regiões como Norte e Nordeste de Minas Gerais, Norte do Espírito Santo e no Rio de Janeiro, as perdas superaram os 4,0 kg/vaca/dia. Nesse caso, o aumento considerado das perdas está associado aos elevados índices de temperatura do ar observados nessas regiões. Vale ressaltar que o aumento da temperatura ambiente impacta negativamente o desempenho de vacas leiteiras, principalmente porque esses animais têm dificuldade em dissipar o calor corporal, o que resulta, entre outros fatores, em menor consumo de alimentos e, conseqüentemente, em uma redução na produção de leite (Nascimento et al., 2017). De forma geral, com base nos mapas, verifica-se que grande parte do estado do Espírito Santo e do Rio de Janeiro, porção noroeste de São Paulo, o Triângulo Mineiro, o Nordeste e o Norte de Minas Gerais são regiões onde a produção de leite pode ser mais impactada pelas variáveis climáticas. A Figura 2 mostra os mapas de APPL para o Sudeste nos meses de janeiro a dezembro de 2023. Observa-se que predominaram anomalias entre a média e abaixo da média histórica de 2003 a 2023.

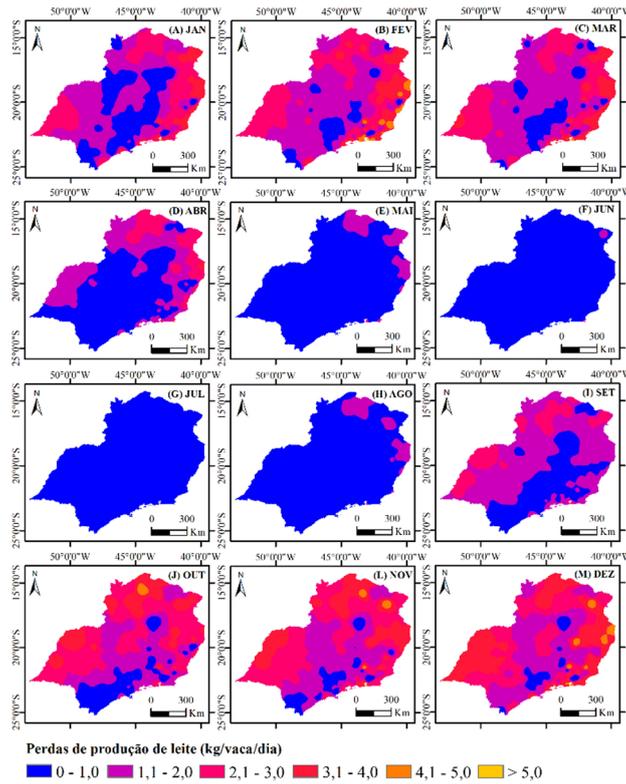


Figura 1. Mapas dos valores médios das perdas de produção de leite (PPL), nos meses de janeiro (A) a dezembro (M) de 2023, para a região Sudeste do Brasil.

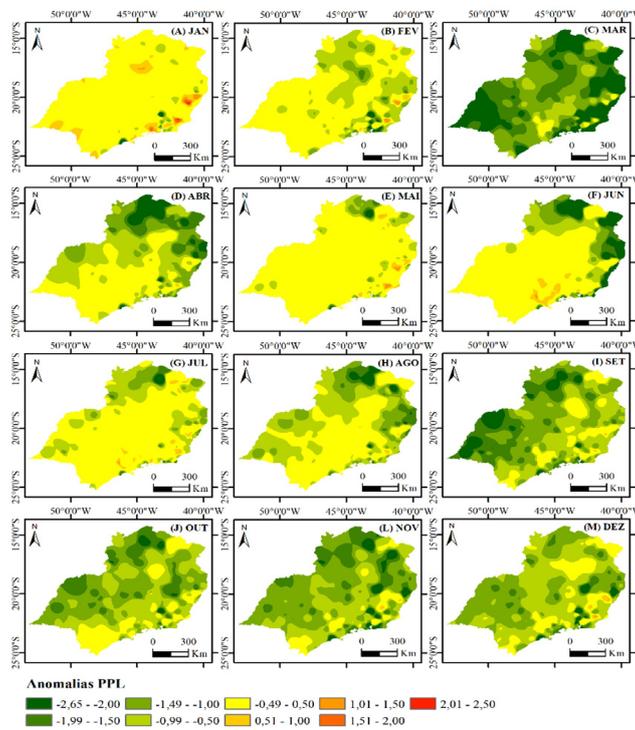


Figura 2. Mapas dos valores médios da anomalia padronizada da perda de produção de leite (APPL), nos meses de janeiro (A) a dezembro (M) de 2023, para a região Sudeste do Brasil.

Em 2023, anomalias de PPL acima da média histórica foram observadas apenas em pequenas áreas nas mesorregiões de Presidente Prudente, Assis, Litoral Sul Paulista, Norte de Minas Gerais, Norte do Espírito Santo e Rio de Janeiro. Essas anomalias podem ser visualizadas principalmente nos mapas dos meses de janeiro (Figura 2A), fevereiro (Figura 2B).

Conclusões

Os mapas de PPL, para a região Sudeste do Brasil, evidenciaram perdas de produção leiteira de vacas Holandesas, à medida que foram alcançados maiores índices de temperatura e umidade relativa do ar (na primavera e no verão). Além disso, algumas mesorregiões foram mais impactadas negativamente pelo estresse térmico do que outras, sobretudo grande parte do estado do Espírito Santo e do Rio de Janeiro, a porção noroeste de São Paulo, o Triângulo Mineiro, o Nordeste e o Norte de Minas Gerais. Por fim, conforme os mapas de APPL para o Sudeste, conclui-se que em 2023 predominaram anomalias entre a média e abaixo da média histórica.

Agradecimentos

À Associação Brasileira de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa pela disponibilidade dos dados utilizados neste estudo. À Embrapa Gado de Leite pela oportunidade da bolsa recebida do Programa PIBIC/CNPq.

Referências

- BACCARI JÚNIOR, F.; VALLE, R.; BACCARI, F.; MENEZES, W. F.; SLANSKY, F.; WILLIAMS, F. L.; ROSS, F. A.; HENDRIX, F. F.; JÚLIO, H.; MATOBA-JÚNIOR, F. **Manejo ambiental da vaca leiteira em climas quentes**. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 2001. 142 p.
- BUNFFINGTON, D. E.; COLLAZO-AROCHO, A.; CANTON, G. H.; PITT, D.; THATCHER, W. W.; COLLIER, R. J. **Black globe-humidity confort index for dairy cows**. St. Joseph: American Society of Agricultural Engineers, 1977. 19 p.
- DALTRO, A. M.; BETTENCOURT, A. F.; XIMENES, C. A. K.; DALTRO, D. dos S.; PINHO, A. P. dos S. Efeito do estresse térmico por calor na produção de vacas leiteiras. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 26, n. 1, p. 288-311, 2020. DOI: <https://doi.org/10.36812/pag.2020261288-311>.
- LEIVAS, J. F.; ANDRADE, R. G.; VICTORIA, D. de C.; TORRESAN, F. H.; VICENTE, L. E.; TEIXEIRA, A. H. de C.; BOLFE, E. L.; BARROS, T. R. de. Avaliação do índice de vegetação padronizado no monitoramento indicativo de estiagens em períodos críticos da soja no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Cartografia**, v. 66, n. 5, p. 1145-1155, 2014. DOI: <https://doi.org/10.14393/rbcv66n5-44704>.
- MAGALHÃES, H. R.; EL FARO, L.; CARDOSO, V. L.; DE PAZ, C. C. P.; CASSOLI, L. D.; MACHADO, P. F. Influência de fatores de ambiente sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 2, p. 415-421, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982006000200011>.
- NASCIMENTO, S. T.; ROSSETO, Y. P.; SILVA, A. A.; MAC-LEAN, P. A. B.; TENÓRIO, J. P. L. Influência da temperatura ambiente no verão na produção de leite de vacas holandesas. **PubVet**, v. 11, n. 3, p. 217-223, 2017. DOI: <https://doi.org/10.22256/PUBVET.V11N3.217-223>.
- PEREIRA, P. A. C. **Impacto de doenças reprodutivas e do manejo sobre a produção e reprodução em rebanhos bovinos leiteiros na região de Guaratinguetá-SP**. 2005. 50 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.
- SILVA, J. C. P. M. da; VELOSO, C. M.; CAMPOS, J. M. de S.; OLIVEIRA, A. S.; VITOR, A. da C. P. **Bem-estar do Gado Leiteiro**: a importância do conforto térmico para o alto desempenho do gado. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2012.

Montagem e funcionamento de biorreatores para processo de compostagem: cama de *Compost Barn* em escala laboratorial

Camila Souza Coelli⁽¹⁾⁽⁷⁾, Luana Araújo Coimbra⁽²⁾, Gabriela Maria Fernandes Fiães⁽³⁾, Caio Teves Inácio⁽⁴⁾, Leonardo de Souza Ramos⁽⁵⁾ e Marcelo Henrique Otenio⁽⁶⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic CNPq), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Estudante de graduação, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾Estudante de pós-graduação, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾Pesquisador, Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ. ⁽⁵⁾Estudante de pós-graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. ⁽⁶⁾Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁷⁾E-mail: camilasouza.coelli@estudante.ufjf.br.

Resumo — A compostagem é um bioprocessamento que ocorre da mistura de material vegetal seco (fonte de carbono) com outros resíduos como esterco e urina (fonte de nitrogênio, água e microrganismos), como no caso da cama de compostagem (*Compost Barn*). Nisto, o bioprocessamento ocorre com o revolvimento (aeração) e geração de calor pela ação dos microrganismos, produzindo CO₂, água e o biocomposto. Este trabalho buscou montar e operar um sistema de composteiras laboratoriais, para avaliar seu funcionamento, mimetizando a cama de *Compost Barn*. O controle de funcionamento é realizado pelo software “Sitrad”, instalado para registrar temperaturas e respirometria. Os biorreatores foram mantidos em funcionamento durante ciclos de 7 dias. Com isso, acompanhou-se também a evolução da microbiota do composto; no primeiro e no último dia de um ciclo. Foram avaliados o número de microrganismos, com meios não seletivo (BHI) e meios seletivos (EMB para Gram negativa, Manitol para Gram positiva e Sabouraud para fungos). Os resultados mostraram que a adição de material orgânico (fezes e urina) propicia a manutenção do desenvolvimento das bactérias Gram negativas e de fungos, quando se mantém a temperatura controlada em 38°C.

Termos para indexação: bioprocessamento, controle, microbiologia.

Mounting and operation of bioreactors for the composting process: Compost Barn bed on a laboratory scale

Abstract — Composting is a bioprocess that occurs by mixing dry plant material (source of carbon) with other waste such as manure and urine (source of nitrogen, water and microorganisms), as in the case of the compost bed (*Compost Barn*). In this, the bioprocess occurs with stirring (aeration) and generation of heat through the action of microorganisms, producing CO₂, water and the biocompound. This work sought to assemble and operate a system of laboratory composters, to evaluate its operation, mimicking the *Compost Barn* bed. Operation control is carried out by the “Sitrad” software, installed to record temperatures and respirometry. The bioreactors were kept in operation for a 7-day cycle. With this, the evolution of the compost’s microbiota was also monitored; on the first and last day of a cycle. The number of microorganisms was evaluated with non-selective media (BHI) and selective media (EMB for Gram negative, Mannitol for Gram positive and Sabouraud for fungi). The results showed that the addition of organic material (feces and urine) maintains the development of Gram-negative bacteria and fungi, when the temperature is controlled at 38°C.

Index terms: bioprocess, control, microbiology.

Introdução

O processo de compostagem consiste em misturar material vegetal seco (fonte de carbono) com dejetos (esterco e urina/fonte de nitrogênio), que no bioprocessamento aeróbio propiciam a estabilização dos dejetos, produzindo dióxido de carbono (CO₂), água e calor (Bewley et al., 2012). Utilizando-se desse mecanismo, o "Compost barn" é um sistema de alojamento para gado leiteiro; é constituído por material vegetal seco (maravalha, casca de café, serragem, casca de amendoim, entre outros materiais) e por dejetos (esterco e urina) que serão compostados (Damasceno et al., 2020). A cama busca garantir conforto/bem-estar e ambiente seco aos animais (Almeida et al., 2022). Com isso, o controle do funcionamento e efetividade do processo deve ser realizado rotineiramente, verificando a temperatura e umidade da cama de *Compost Barn* (Andrade et al., 2019) e ainda avaliar a qualidade microbiológica (Muxfeldt, 2020) durante a compostagem.

Para realizar estudos mais controlados e refinados, a fim de verificar a microbiota da compostagem, por exemplo, emprega-se composteiras laboratoriais. Estes são equipamentos amplamente utilizados na pesquisa e desenvolvimento em biomedicina, biofármacos, bioenergia e biorremediação de resíduos, entre outros bioprocessos (Inácio et al., 2018). Esses sistemas oferecem um controle maior sobre todo o desenvolvimento experimental, possibilitando pesquisar com mais segurança e celeridade temas como degradação de agrotóxicos, perda de nitrogênio e eficiência do uso de inoculantes microbianos durante a compostagem (Embrapa, 2023). Estes biorreatores de bancada e/ou laboratoriais propiciam mimetizar o ambiente da cama de compostagem com controles físico e químicos mais estáveis e a possibilidade de testes e avaliações da microbiota envolvida e até com perspectivas de inoculação de microrganismos.

O conteúdo desse documento 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 1 – “Erradicação da pobreza: Acabar com a pobreza em todas as suas formas, em todos os lugares”; ODS 3 – “Saúde de qualidade: Assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todos, em todas as idades”; ODS 12 - “Assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis”.

Material e métodos

Para a montagem das composteiras laboratoriais, foram estudadas e propostas proporções entre o volume de cama e dejetos (fezes e urina), baseando-se no sistema de *compost Barn* escala real instalado na Fazenda da Embrapa Gado de Leite e foram mantidas as proporções de volume de cama e lotação de animais, para o tamanho dos equipamentos utilizados nesta pesquisa. Portanto, conforme a literatura de Knowlton et al. (2010), vacas holandesas produzem, diariamente, 51,7 kg de fezes e 22,7 kg de urina. O sistema de *Compost Barn* mantém 85 animais, estima-se a produção de 4394,5 kg/d de fezes e 1929,5 kg/d de urina em uma área conhecida de 1224 m². Além disso, há a perda de 20% do total de dejetos dos animais na pista de alimentação. Ajustou-se, assim, a estimativa de dejetos depositados na cama para 3515,6kg/d de fezes e 1543,6 kg/d de urina. Tendo-se a altura da cama do composto de 0,6 m, calculou-se o volume do material de compostagem em 734,4 m³.

Calculou-se também o volume das composteiras laboratoriais. Elas são cilíndricas com diâmetro de 14,5 cm e altura útil de 20 cm. Dessa forma, o volume de material adicionado nas composteiras (Figura 1) foi de 3300cm³ ou 0,0033m³. Com isso, correlacionou-se o volume de cama do Compost real (734,4m³) com o volume de cama dos biorreatores

(0,0033m³); a produção diária de fezes na cama (3515,6kg) e de urina (1543,6kg). Assim, o abastecimento diário de fezes e urina adicionado aos biorreatores foi de 15,8g de fezes e 6,9g de urina. Na montagem inicial da cada composteira foi acondicionado, 1,1 kg de composto (1kg de cama original e 0,1kg de maravalha).



Figura 1. Biorreatores de bancada, composteiras escala laboratorial em funcionamento.

O controle de funcionamento do bioprocesso é realizado pelo software “SITRAD”, instalado para registrar temperaturas e respirometria das composteiras. Desenvolvido pela Full Gauge Controls, o software SITRAD® tem como finalidade o gerenciamento de instalações de refrigeração, aquecimento, climatização e aquecimento solar. Conta com três sensores de temperatura e é o responsável pelos acionamentos da resistência elétrica que compensa as perdas de calor para o ambiente e das válvulas solenóides que conduzem ao sistema de respirometria. Nos reatores, o suprimento de ar requerido pela microbiota responsável pela compostagem é fornecido por um compressor externo ao laboratório. O fluxo contínuo é regulado por um fluxômetro de baixa vazão (rotâmetro modelo 1900 APPLIETCH) (Ramos, 2019), sendo utilizado um fluxo de 20L/h. Esses dois parâmetros (aeração e temperaturas) foram utilizados para acompanhar, em tempo real, o bioprocessos da compostagem.

Foi ainda realizado no primeiro e no último dia de um ciclo avaliação do número de microrganismos, com meios não seletivo (BHI) e meios seletivos (EMB para Gram negativo, Manitol para Gram positivo e Sabouraud para fungos) para comparação da quantidade de microrganismos sobreviventes.

Resultados e discussão

Os resultados dos primeiros testes mostraram que o processo biológico de compostagem acontecia muito rapidamente; então, a temperatura aumentava e mantinha-se por três dias, como demonstra no gráfico 1 (a), gerando alta produção de compostos nitrogenados voláteis, principalmente, amônia. Assim, para manter a temperatura em um intervalo fixo, programou-se o sistema Sitrad para ligar as resistências internas quando a temperatura de dentro dos biorreatores alcançassem 38 °C, demonstrado no gráfico 1 (b). Dessa forma, o processo biológico foi mantido sob controle, utilizando a temperatura como parâmetro de controle e continuidade da compostagem.

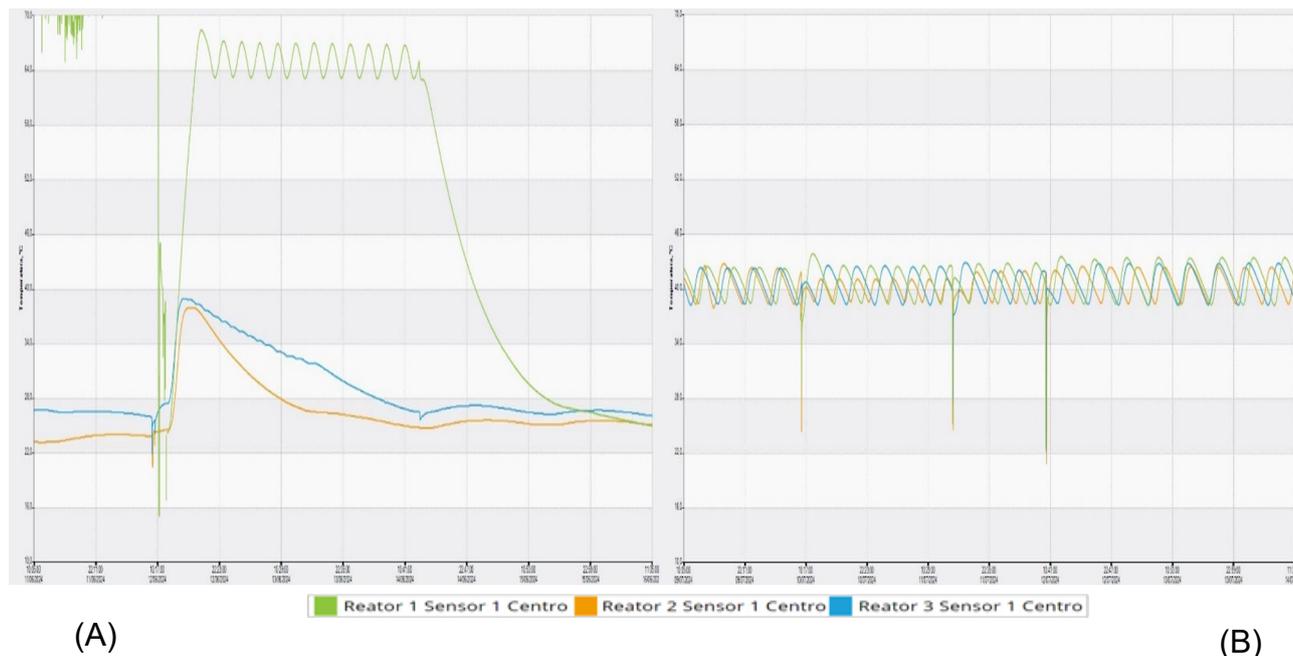


Gráfico 1. Medida da temperatura sem controle de acionamento de resistência (a), Medida da temperatura com controle de acionamento de resistência (b).
Fonte: Sitrad 2024.

Para contagem de microrganismos o resultado referente ao crescimento de bactérias no meio não seletivo (BHI) foi inicialmente de $9.25 \log_{10} \cdot \text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$, em meio seletivo para Gram negativo (EMB) foi inicialmente $5.65 \log_{10} \cdot \text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$, para Gram positivo (manitol) não houve crescimento e seletivo para fungos $5.70 \log_{10} \cdot \text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$. Ao final do ciclo, o crescimento em meio não seletivo (BHI) foi de $7.45 \log_{10} \cdot \text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$, em EMB foi de $6.90 \log_{10} \cdot \text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$, em Manitol não houve crescimento e em Sabouraud foi de $5.15 \log_{10} \cdot \text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$.

Dessa forma, constatou-se que o controle de temperatura, controlada em $38 \text{ }^{\circ}\text{C}$ é capaz de diminuir a contagem geral de bactérias, mas a presença de bactérias Gram negativas indica a persistência deste grupo de microrganismos. Isto pode estar ocorrendo pela adição de material orgânico (fezes e urina) fazendo com haja maior crescimento de bactéria Gram negativas e de fungos, quando se mantém a temperatura de no mínimo $38 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (Thomas et al., 2024).

Conclusões

Estes resultados demonstram que o controle de temperatura e aeração oferecidos pelo sistema SITRAD foi essencial para determinação dos parâmetros de operação das composteiras laboratoriais, bem como o controle e funcionamento do bioprocessamento. Estudos futuros deverão ser realizados para verificar a capacidade de eliminação de microrganismos potencialmente patogênicos para bovinos que possam ocorrer a partir da cama do *Compost Barn*.

Agradecimentos

Ao apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Brasil, pela bolsa de Iniciação Científica concedida. A Embrapa Gado de Leite e a Fapemig pelo financiamento dos experimentos. Fapemig: Processo nº APQ-00000-18 – Projeto: “Saúde no período de transição de vacas leiteiras alojadas em Sistemas *Compost Barn*”.

Referências

- ALMEIDA, L. M. de; CAVASSIM, M. P.; DAL BELLO, V.; OLIVERIA, J. J. Compost Barn. In: FEIRA DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA, ARTE E CULTURA DO INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE DO CAMPUS CONCÓRDIA, 5., 2022, Concórdia. **Anais...** Concórdia: Instituto Federal Catarinense, 2022. p. 18. Disponível em: <https://publicacoes.ifc.edu.br/index.php/fecitac/article/view/3397/2737>. Acesso em: 19 fev. 2024.
- ANDRADE, R. R.; TINÔCO, I. de F. F.; DAMASCENO, F. A.; LAUD, G. de S.; VALENTE, D.; JÚNIOR, C. G. de S. T. Temperatura interna da cama em sistema de confinamento Compost Barn climatizado. In: SIMPÓSIO, 4.; SEMANA ACADÊMICA DE ENGENHARIA AGRÍCOLA E AMBIENTAL, 16., 2019, Viçosa. **Anais**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2019. p. 57-59.
- BEWLEY, J.; TARABA, J.; DAY, G.; BLACK, R.; DAMASCENO, F. A. **Compost bedded pack barn design: features and management considerations**. Lexington: University of Kentucky, 2012. (Cooperative Extension Publ. ID-206). Disponível em: <http://www2.ca.uky.edu/agc/pubs/ID/ID206/ID206.pdf>. Acesso em: 20 fev. 2024.
- DAMASCENO, F. A.; BRANDÃO, L.; FERRAZ, G.; BARBARI, M.; LESO, L.; MONGE, J.; PANTOJA, J.; FERREIRA, R.; FAGUNDES, B.; LOPE, M. **Compost barn como uma alternativa para a pecuária leiteira**. Divinópolis: Gulliver, 2020. 797 p.
- EMBRAPA. **Sistema inédito de biorreatores monitora processos de compostagem em laboratório**. Brasília, DF, 2023. Notícias. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/78441955/sistema-inedito-de-biorreatores-monitora-processos-de-compostagem-em-laboratorio>. 2023. Acesso em: 15 fev. 2024.
- INÁCIO, C. de T.; GOUVEA, S. P.; LAFORET, M. R. C. **Panorama tecnológico de biorreatores para pesquisa de transformação de resíduos sólidos em fertilizantes orgânicos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2018. 26 p. (Embrapa Solos. Documentos, 201). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/183763/1/CNPS-DOC-201-2018.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2024.
- KNOWLTON, K. F.; WILKERSON, V. A.; CASPER, D. P.; MERTENS, D. R. Manure nutrient excretion by Jersey and Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 1, p. 407-412, 2010. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2617>.
- MUXFELDT, L. **Qualidade do leite e da cama em sistema compost barn**. 2020. 76 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2020. Disponível em: https://tede.unioeste.br/bitstream/tede/5345/2/Luana_Muxfeldt_2020.pdf. Acesso em: 16 fev. 2024.
- RAMOS, L. S. **Compostagem e sua simulação em reatores de bancada do tipo controle diferencial de temperatura**. 2019. 45 f. Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: <http://www.repositorio.poli.ufrj.br/monografias/monopoli10030062.pdf>. Acesso em: 19 fev. 2024.
- THOMAS, C.; IDLER, C.; AMMON, C.; AMON, T. Applied research note: survival of Escherichia coli and temperature development during composting of chicken manure with a typically low carbon/nitrogen ratio and moisture content. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 33, n. 2, 100402, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.japr.2024.100402>.

Adensamento versus volume da dieta líquida: efeito no desenvolvimento corporal e desempenho de bezerras

Laura Alice de Jesus Silva⁽¹⁾⁸⁾, Saulo Moreira Mendes⁽³⁾, Alina Vaz das Graças⁽²⁾, Anna Luiza Lacerda Sguizzato⁽⁴⁾, Jaciara Diavão⁽⁴⁾, Abias Santos Silva⁽⁴⁾, Sandra Gesteira Coelho⁽⁵⁾, Mariana Magalhães Campos⁽⁶⁾ e Fernanda Samarini Machado^{(6),(7)}

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/CNPq), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Estudante de graduação, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾Estudante de pós-graduação, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. ⁽⁴⁾Bolsista, Embrapa Gado de Leite, Coronel Pacheco, MG. ⁽⁵⁾Professora, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. ⁽⁶⁾Pesquisadora, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁷⁾Orientadora. ⁽⁸⁾E-mail: laura.alice.j.s@gmail.com.

Resumo — O adensamento da dieta líquida de bezerras é uma estratégia que consiste em aumentar a porcentagem de sólidos visando garantir um aporte de nutrientes adequado para a criação das bezerras. Ainda não foi estabelecido um limite de adensamento que otimize o desempenho dos animais, implicando na necessidade de mais estudos sobre o assunto. Objetivou-se avaliar o efeito do adensamento em comparação com o volume da dieta líquida com a mesma quantidade de sólidos totais no desenvolvimento corporal e desempenho de bezerras da raça Holandesa. Foram utilizados 30 bezerras (18 machos e 12 fêmeas) da raça Holandesa, que receberam um de dois tratamentos, respeitando a mesma proporção entre machos e fêmeas, sendo: i) volume: 6 L de sucedâneo Nurture[®] Prime, [750 g; 12,5% de sólidos totais (ST)] por dia fracionados em duas refeições (3 L às 08h30 e 14h30).; e ii) adensado; 4,5 L de sucedâneo Nurture[®] Prime, (750 g; 16,7% ST) por dia (2,25 L às 08h30 e às 14h30). Os animais foram pesados ao nascimento, e a cada sete dias, até o final do período experimental (70 dias) às 7h em balança mecânica antes do fornecimento da dieta líquida da manhã. Para acompanhamento do desenvolvimento corporal foram realizadas as medições com os animais em estação em local plano, com trena e fita métrica da largura de garupa ((LG); distância entre as pontas dos íleos); altura de cernelha ((AC); distância entre o chão até a cernelha) e perímetro torácico ((PT); circunferência do tórax logo após as escápulas, sob o externo). O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com dois tratamentos e 15 repetições por tratamento. Os dados foram analisados utilizando o pacote estatístico R e as médias dos tratamentos foram comparadas utilizando o teste de Tukey. As diferenças entre as médias foram consideradas significativas quando $P \leq 0,05$. Não houve diferença entre os tratamentos no desenvolvimento corporal e desempenho ($P > 0,05$). O desenvolvimento corporal e o desempenho de bezerras da raça Holandesa até os 70 dias não são alterados quando submetidos à dieta líquida adensada com a mesma quantidade de sólidos totais.

Termos para indexação: sucedâneo, leite, período pré-desaleitamento.

Density versus volume of liquid diet: effect on body development and performance of calves

Abstract — The densification of liquid diet for calves is a strategy involving increasing solids content to ensure adequate nutrient intake for calf rearing. An optimal densification limit that maximizes animal performance has not yet been established, necessitating further studies on the subject. This study aimed to evaluate the effect of densification compared to liquid diet volume with the same amount of total solids on body development and performance of Holstein calves. Thirty Holstein calves (18 males and 12 females) were used in the study, receiving one of two treatments, maintaining equal gender distribution: i) volume: 6 L of Nurture[®] Prime milk replacer (750 g; 12.5% total solids (TS)) per day divided into two meals

(3 L at 08:30 and 14:30); and ii) densified: 4.5 L of Nurture[®] Prime milk replacer (750 g; 16.7% TS) per day (2.25 L at 08:30 and 14:30). The animals were weighed at birth and every seven days throughout the experimental period (70 days) at 7 AM on a mechanical scale before morning liquid diet provision. Body development measurements included hip width ((HW); distance between the tips of the ileum), withers height ((WH); distance from the ground to the withers), and chest circumference ((CC); circumference just behind the scapulae, excluding the hump). The study used a completely randomized design with two treatments and 15 replications per treatment. Data were analyzed using the R statistical package, and treatment means were compared using Tukey's test. Differences between means were considered significant at $P \leq 0.05$. There were no differences between treatments in body development and performance ($P > 0.05$). Thus, body development and performance of Holstein calves up to 70 days are not affected when subjected to densified liquid diets with the same amount of total solids.

Index terms: milk replacer, milk, pre-weaning period.

Introdução

Os custos da criação de animais de reposição representam aproximadamente 15% a 20% dos custos totais na maioria das fazendas leiteiras, sendo a fase de aleitamento a mais representativa nesse total, devido ao alto custo da dieta líquida, juntamente com o de manejo animal (Fontes et al., 2006). O leite integral deve ser o principal alimento na fase inicial de vida das bezerras, contudo, este produto é destinado à comercialização e a sua utilização para alimentação dos bezerros chega a representar 90% do custo de produção dos bezerros, o que na maioria das vezes torna a utilização dentro da propriedade restrita (Mancio et al., 2005).

A nutrição na fase inicial da vida dos bezerros pode trazer efeitos a longo prazo, melhorando o funcionamento do sistema imunológico, desenvolvimento, aumento precoce do crescimento mamário nas fêmeas, maior deposição de tecidos magros e produção futura de leite (Coelho, 2009). Novas tecnologias vêm sendo utilizadas para substituir de forma eficiente o leite integral, como a utilização de sucedâneos, auxiliando no gerenciamento correto do rebanho, levando em consideração o custo e benefício (Soberon et al., 2012).

Atualmente a utilização do sucedâneo é bem empregada, sendo uma das principais formas de substituição do leite integral na alimentação de bezerros (Azevedo et al., 2013). Segundo Azevedo et al. (2016), novas estratégias para aumentar a ingestão de nutrientes por meio de dieta líquida foram propostas para melhorar a produtividade futura das bezerras. Porém as recomendações para a concentração máxima de sólidos totais na alimentação líquida ainda não estão bem estabelecidas, sendo necessário novas pesquisas.

O baixo fornecimento de nutrientes durante o aleitamento está associado à redução no ganho de peso, risco de doenças e comportamentos indicativos de fome. Produtores e técnicos têm fornecido maior volume de dieta líquida, ou adensado a dieta, com uso de sucedâneo, objetivando maior fornecimento de nutrientes para as bezerras. As duas estratégias têm sido utilizadas sem um estudo avaliando qual delas pode proporcionar maior ganho de peso e menos distúrbios digestivos; o fornecimento de maior volume de dieta líquida, em duas frações, tem potencial para desencadear queda no consumo de alimentos devido enchimento gástrico e de aumentar as úlceras de abomaso; já o adensamento tem potencial de causar queda no consumo de alimentos por estímulos quimiostáticos e de aumentar quadros de timpanismo abomasal. O objetivo do presente estudo foi avaliar

o efeito do adensamento em comparação com o volume da dieta líquida com a mesma quantidade de sólidos totais no desenvolvimento corporal e desempenho de bezerros da raça Holandesa.

O conteúdo desse documento 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 1 – “Erradicação da pobreza: Acabar com a pobreza em todas as suas formas, em todos os lugares”; 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

Todos os procedimentos realizados foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Embrapa Gado de Leite (protocolo nº 4669141222). O estudo foi conduzido no Laboratório Multiusuário de Bioeficiência e Sustentabilidade da Pecuária, Coronel Pacheco -MG. Utilizou-se 30 bezerros (18 machos e 12 fêmeas) da raça Holandesa, avaliados até os 70 dias, onde foram mantidos em baias individuais de piso emborrachado coberto com cama de serragem, em galpão fechado. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em delineamento inteiramente casualizado em um de dois tratamentos, sendo: i) volume: 6 L de sucedâneo Nurture® Prime, (750 g; 12,5% de sólidos totais (ST)) por dia fornecidos em duas refeições (3 L às 08h30 e às 14h30) e ii) adensado: 4,5 L de sucedâneo Nurture® Prime (750 g; 16,7% ST) em duas refeições (2,25 L às 08h30 e às 14h30). Logo após o nascimento, foi realizada a cura do umbigo com iodo 10%, pesagem e medidas, e colostragem com 10% do peso vivo (PV), via sonda oro-esofágica à 39 °C. Aproximadamente oito horas depois, um segundo fornecimento de colostro foi realizado com volume de 5% do PV. Entre o segundo e quarto dia, foram fornecidos 6 L de leite de transição por animal, divididos em duas refeições de (08h30 e 14h30). No quinto dia os bezerros foram distribuídos aleatoriamente aos tratamentos, respeitando a mesma proporção entre machos e fêmeas. O volume total de sucedâneo foi fornecido até os 56 dias, entre os dias 57 e 60 foi iniciado o desaleitamento parcial, sendo fornecido apenas uma refeição (08h30), e a partir de 61 dias foi realizado o desaleitamento total. Ração concentrada (20% PB) e água foram disponibilizados à vontade durante todo o período experimental. A partir do desaleitamento foi adicionado o equivalente a 5% da matéria seca oferecida em silagem de milho misturada ao concentrado.

Os animais foram pesados ao nascimento e a cada sete dias até o final do período experimental em balança mecânica (ICS 300, Coimma, Dracena, Brasil) antes do fornecimento da dieta líquida da manhã. Para acompanhamento do desenvolvimento corporal foram realizadas medições, com os animais em estação, em um local plano. As medidas foram realizadas com trena e fita métrica da largura de garupa ((LG); distância entre as pontas dos íleos); altura de cernelha ((AC); distância entre o chão até a cernelha) e perímetro torácico ((PT); circunferência do tórax logo após as escápulas, sob o externo).

Resultados e discussão

Não houve diferença significativa entre os tratamentos volume e adensamento ($P > 0,05$) para todas as medidas morfométricas avaliadas e ganho de peso. O peso corporal, LG, AC, PT e o ganho médio diário (GMD) aumentaram gradativamente de acordo com o aumento da idade.

Tabela 1. Efeito do adensamento em comparação com o volume da dieta líquida com a mesma composição no desenvolvimento e desempenho de bezerros da raça Holandesa.

Item	Tratamentos		EPM ¹	P - valor		
	Volume	Adensado		Tratamento	Semana	T x S ²
Ganho médio diário, g/dia	0,625	0,625	0,026	0,93	<0,001	0,88
Peso final, kg	51,6	51,9	0,870	0,69	<0,001	0,94
Largura de garupa, cm	22,4	22,3	0,117	0,28	<0,001	0,93
Perímetro torácico, cm	84,8	84,9	0,550	0,88	<0,001	0,87
Altura da cernelha, cm	82,7	82,5	0,440	0,77	<0,001	0,76

¹EPM, erro padrão da média; ²P - valor: TxS: interação tratamento semana. Diferenças consideradas pelo teste de Tukey a $P < 0,05$.

Os dados foram analisados utilizando o pacote estatístico R (R Core Team, 2019) e as médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey. As diferenças entre as médias foram consideradas significativas quando $P \leq 0,05$.

A hipótese do presente estudo era que o adensamento da dieta líquida não influenciaria o desenvolvimento corporal e desempenho, uma vez que a mesma quantidade de sólidos totais e mesma composição nutricional da dieta líquida foi fornecida nos dois tratamentos, alterando apenas a porcentagem de ST no tratamento adensado.

Azevedo et al. (2016) avaliaram o adensamento da dieta líquida com tratamento chegando a 20,4% de ST, porém uma quantidade em gramas de sólidos totais era maior comparado ao tratamento controle, os animais do tratamento adensado apresentaram maior peso corporal, com uma menor ingestão inicial de concentrado e um atraso no desenvolvimento do rúmen em comparação com o controle. Por outro lado, o menor enchimento do abomaso promovido por dietas líquidas com menor volume e mais adensadas, podem influenciar o consumo de MS e conseqüentemente, o desempenho (Burgstaller et al., 2017).

No presente estudo, o desenvolvimento corporal e o desempenho não foram influenciados pela estratégia de adensamento comparado com maior volume utilizada (4,5 L/dia – 16,7% de ST vs. 6 L – 12,5% de ST; com 750 g de sucedâneo nos dois tratamentos). Nesse sentido, o adensamento até 16,7% pode ser uma estratégia utilizada sem comprometer o desenvolvimento corporal e o desempenho de bezerros leiteiros, permitindo a escolha que melhor se encaixe no manejo.

Conclusões

A dieta líquida com sucedâneo pode ser fornecida com maior volume (6L, 12,5% de ST) ou com maior adensamento (4,5L, 16,7% de ST) com resultados de desenvolvimento

corporal e desempenho semelhantes de bezerros da raça Holandesa até os 70 dias de idade.

Agradecimentos

Ao apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Brasil, pela oportunidade da bolsa recebida do Programa Pibic, a Fapemig pelo financiamento do projeto APQ-00996-22. À Embrapa Gado de Leite que me proporcionou obter experiência e aprendizado, às pesquisadoras Mariana Campos e Fernanda Machado, ao mestrando Saulo pelo acompanhamento, orientação e apoio durante o período de estudos e treinamento e toda a equipe do Campo Experimental.

Referências

- AZEVEDO, R. A.; ARAÚJO, L.; COELHO, S. G.; FARIA FILHO, D. E.; DUARTE, E. R.; GERASEEV, L. C. Desempenho de bezerros alimentados com silagem de leite de transição. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 5, p. 545-552, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2013000500011>.
- AZEVEDO, R. A.; MACHADO, F. S.; CAMPOS, M. M.; LOPES, D. R. G.; COSTA, S. F.; MANTOVANI, H. C.; LOPES, F. C. F.; MARCONDES, M. I.; PEREIRA, L. G. R.; TOMICH, T. R.; COELHO, S. G. The effects of increasing amounts of milk replacer powder added to whole milk on passage rate, nutrient digestibility, ruminal development, and body composition in dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 11, p. 8746-8758, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11410>.
- BURGSTALLER, J.; WITTEK, T.; SMITH, G. W. Invited review: abomasal emptying in calves and its potential influence on gastrointestinal disease. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 1, p. 17-35, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10949>.
- COELHO, S. G. Desafios na criação e saúde de bezerros. **Ciência Animal Brasileira**, v. 1, p. 1-16, 2009.
- FONTES, F. A. P. V.; COELHO, S. G.; LANA, A. M. Q.; COSTA, T. C.; CARVALHO, A. U.; FERREIRA, M. I. C.; SATURNINO, H. M.; REIS, R. B.; SERRANO, A. L. Desempenho de bezerros alimentados com dietas líquidas à base de leite integral ou soro de leite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 2, p. 212-219, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352006000200010>.
- MANCIO, A. B.; GOES, R. H. T. B.; CASTRO, A. L. M.; CAMPOS O, F.; CECON, P. R.; SILVA, A. T. S. Colostro fermentado, associado ao óleo de soja e promotor de crescimento, em substituição ao leite na alimentação de bezerros mestiços leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 4, p. 1314-1319, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982005000400028>.
- R CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2019.
- SOBERON, F.; RAFFRENATO, E.; EVERETT, R. W.; VAN, A. M. E. Prewaning milk replacer intake and effects on long-term productivity of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 2, p. 783-793, 2012. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4391>.

Adensamento versus volume da dieta líquida: efeito nos parâmetros ruminais de bezerros

Alina Vaz das Graças⁽¹⁾⁽⁷⁾, Saulo Moreira Mendes⁽²⁾, Laura Alice de Jesus Silva⁽³⁾, Anna Luiza Lacerda Sguizzato⁽⁴⁾, Jaciara Diavão⁽⁴⁾, Abias Santos Silva⁽⁴⁾, Sandra Gesteira Coelho⁽⁵⁾ e Mariana Magalhães Campos⁽⁶⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/CNPq.), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Estudante de pós-graduação, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. ⁽³⁾Estudante de graduação, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾Estudante de pós-graduação, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁵⁾Professora, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. ⁽⁶⁾Pesquisadora, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁷⁾E-mail: vazdasgracasalina@gmail.com.

Resumo — As fazendas leiteiras usualmente fornecem leite para bezerros a 10% do peso vivo, porém, alguns estudos sugerem que o aumento da dieta líquida promove maior crescimento dos bezerros. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do adensamento em comparação com o volume da dieta líquida com a mesma quantidade de sólidos totais nos parâmetros ruminais de bezerros da raça Holandesa. Foram utilizados 30 bezerros da raça Holandesa, que receberam um de dois tratamentos, sendo: i) volume: 6 L de sucedâneo Nurture[®] Prime, (750 g; 12,5% de sólidos totais (ST)) por dia fracionados em duas refeições (3 L às 08h30 e 14h30); e ii) adensado; 4,5 L de sucedâneo Nurture[®] Prime, (750 g; 16,7% ST) por dia (2,25 L às 08h30 e às 14h30). As amostras de conteúdo ruminal foram coletadas na 2^a, 4^a, 6^a e 8^a semana para avaliação da concentração de acetato, butirato, propionato, relação acetato:propionato, nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e pH. Os dados foram analisados por meio do pacote estatístico R e as médias dos tratamentos foram comparadas utilizando o teste de Tukey. Houve maior concentração de N-NH₃ (10,31%) para o tratamento volume em relação ao tratamento adensado (7,96%). Houve efeito da semana sobre a concentração de ácidos graxos voláteis (AGVs), N-NH₃ e pH como consequência no aumento de consumo de dieta sólida e desenvolvimento ruminal. O adensamento da dieta líquida reduz a concentração de N-NH₃ e o pH ruminal, e aumenta a concentração de acetato ruminal na semana 8, próximo ao desaleitamento.

Termos para indexação: dieta líquida, fermentação ruminal, sucedâneo.

Density versus volume of liquid diet: effect on body development and performance of calves

Abstract — Dairy farms usually provide milk to calves at 10% of live weight, however, some studies suggest that increasing the liquid diet promotes greater growth in calves. Therefore, the objective of the present study was to evaluate the effect of density in comparison with the volume of liquid diet with the same amount of total solids on the ruminal parameters of Holstein calves. Thirty Holstein calves were used, which received one of two treatments, being: i) volume: 6 L of Nurture[®] Prime milk replacer, (750 g; 12.5% total solids (TS)) per day divided into two meals (3 L at 8:30 am and 2:30 pm); and ii) dense; 4.5 L of Nurture[®] Prime substitute, (750 g; 16.7% ST) per day (2.25 L at 8:30 am and 2:30 pm). Ruminal content samples were collected in the 2nd, 4th, 6th and 8th week to evaluate the concentration of acetate, butyrate, propionate, acetate:propionate ratio, ammonia nitrogen (N-NH₃) and pH. Data were analyzed using the R statistical package and treatment means were compared using the Tukey test. There was a higher concentration of N-NH₃ (10.31%) for the volume treatment compared to the dense treatment (7.96%). There was an effect of the week on the concentration of volatile fatty acids (VFAs), N-NH₃ and pH as a consequence of the increase in solid diet consumption and rumen development. Thickening the liquid diet reduces the

concentration of N-NH₃ and ruminal pH, and increases the concentration of ruminal acetate in week 8, close to weaning.

Index terms: liquid diet, milk replacer, rumen fermentation.

Introdução

Em um animal adulto o compartimento estomacal mais desenvolvido é o rúmen, já em bezerros, o abomaso. Isso ocorre porque nessa fase a dieta líquida, composta por leite ou sucedâneo, é a principal fonte de alimento consumido pelos bezerros, sendo desviado por meio da goteira esofágica até o abomaso, onde ocorrerá sua digestão. Com o passar do tempo, aumenta-se o consumo de alimentos sólidos favorecendo o desenvolvimento ruminal.

Uma prática muito realizada nas fazendas é o fornecimento de volume de leite equivalente a 10% do peso vivo com 12,5% sólidos totais (Azevedo et al., 2016). Entretanto, já é conhecida a limitação de desempenho dessa estratégia, uma vez que os animais ganham menos peso e apresentam comportamentos sugestivos de fome, apontando a necessidade de aumento do fornecimento de nutrientes ou aumento no volume de leite oferecido (Azevedo et al., 2016; Jafari et al., 2020; Rosadiuk et al., 2021). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do adensamento em comparação com maior volume da dieta líquida com mesma quantidade de nutrientes sobre os ácidos graxos voláteis (AGVs), pH e nitrogênio amoniacal ruminal de bezerros da raça Holandesa.

O conteúdo desse documento 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 1 – “Erradicação da pobreza: Acabar com a pobreza em todas as suas formas, em todos os lugares”; 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

Os procedimentos envolvendo animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Embrapa Gado de leite nº 4669141222. O estudo foi conduzido no Laboratório Multiusuário de Bioeficiência e Sustentabilidade da Pecuária, no Campo Experimental José Henrique Bruschi, da Embrapa Gado de Leite, em Coronel Pacheco, MG.

Foram utilizados 30 bezerros (18 machos e 12 fêmeas) da raça Holandês. Após o nascimento, os animais foram encaminhados ao LBMS onde receberam os manejos iniciais: cura do umbigo com solução de iodo a 10% e duas colostragens por sonda oroesofágica - 1ª: 10% do peso vivo (PV) com brix de 25° e 2ª: 5% do PV, com intervalo de oito horas. Entre o 2º e o 4º dia foram fornecidos 6 L de leite de transição divididos em duas refeições diárias (3 L pela manhã e tarde). No 5º dia, os bezerros foram distribuídos aleatoriamente nos tratamentos volume ou adensado. No tratamento volume os animais receberam 6 L de sucedâneo Nurture® Prime (750 g - 12,5% de sólidos totais (ST)) por dia (3 L às 08h30 e às 14h30). Já no tratamento adensado os animais receberam 4,5 L de sucedâneo Nurture® Prime (750 g - 16,7% de ST) por dia (2,25 L às 08h30 e às 14h30). O aleitamento total

ocorreu até os 56 dias de vida, já entre os 57 e 60 dias foi realizado o desaleitamento parcial, sendo fornecido apenas uma refeição pela manhã, e aos 61 dias foi realizado o desaleitamento total. Água e concentrado (20% PB) foram fornecidos à vontade desde o primeiro dia de vida.

Para a avaliação dos AGVs (acetato, butirato e propionato) foram coletadas amostras de conteúdo ruminal na 2^a, 4^a, 6^a e 8^a semana de vida, utilizando sonda oroesofágica, 2,5 horas após o aleitamento da manhã. Após a coleta, as amostras foram filtradas em peneira com gaze e o pH mensurado (pHmetro T-1000, Tekna, Araucária, Brasil). Uma alíquota de 10 mL foi separada e adicionada em recipiente contendo 1 mL de ácido metafosfórico (20% v/v), para a mensuração dos AGVs utilizando cromatógrafo de fase gasosa (Waters Alliance e2695 Chromatograph, Waters Technologies do Brasil LTDA, Barueri, SP, Brasil). Outra alíquota de 10 mL foi separada e adicionada em outro recipiente contendo 1 mL de ácido sulfúrico (50% v/v) a 0,1 N, para determinação do nitrogênio amoniacal (N-NH₃).

O experimento foi conduzido utilizando o delineamento inteiramente casualizado (DIC) com dois tratamentos e 15 repetições por tratamento. Os dados foram analisados por meio do pacote estatístico R 4.3.3. (R Core Team, 2024) e as médias dos tratamentos foram comparadas utilizando o teste de Tukey. A semana foi incluída como medida repetida no tempo e as diferenças entre as médias foram consideradas significativas quando $P \leq 0,05$.

Resultados e discussão

Não houve diferença na concentração de butirato, propionato, na relação acetato:propionato e no pH entre os tratamentos. Entretanto, a concentração de N-NH₃ foi maior ($P = 0,045$) no tratamento volume quando comparado ao tratamento adensado. Todas as variáveis foram influenciadas pela semana ($P \leq 0,001$; Tabela 1). Houve interação tratamento x semana para o acetato, com menor concentração para o tratamento volume na semana 2, crescente ao longo do período avaliado, e menor concentração de acetato para o tratamento adensado nas semanas 2 e 4, quando comparado às semanas 6 e 8. Apenas na semana 8, próximo ao desaleitamento houve diferença na concentração de acetato ruminal entre os tratamentos, que foi maior (4,06 mmol/L) para o tratamento adensado quando comparado ao tratamento volume. (Figura 1).

Tabela 1. Efeito do adensamento em comparação com o volume da dieta líquida com a mesma quantidade de sólidos totais sobre parâmetros ruminiais de bezerros da raça Holandesa.

Item	Tratamento			P - valor		
	Volume	Adensado	EPM ¹	T ²	S ³	TxS
Acetato; mmol/L	12,200	13,600	0,890	0,200	<0,001	0,020
Butirato; mmol/L	2,770	3,200	0,300	0,190	<0,001	0,380
Propionato; mmol/L	5,380	7,350	0,900	0,070	<0,001	0,590
Acetato: Propionato	2,140	1,830	0,150	0,100	<0,001	0,780
N-NH ₃ %	10,310a	7,957b	0,780	0,045	<0,001	0,680
pH	6,2	6,3	0,087	0,157	0,0252	0,098

¹EPM: Erro Padrão Médio; ²T: tratamento; ³S: semanas; TxS: interação tratamento e semanas. Diferenças consideradas pelo teste de Tukey a $P < 0,05$.

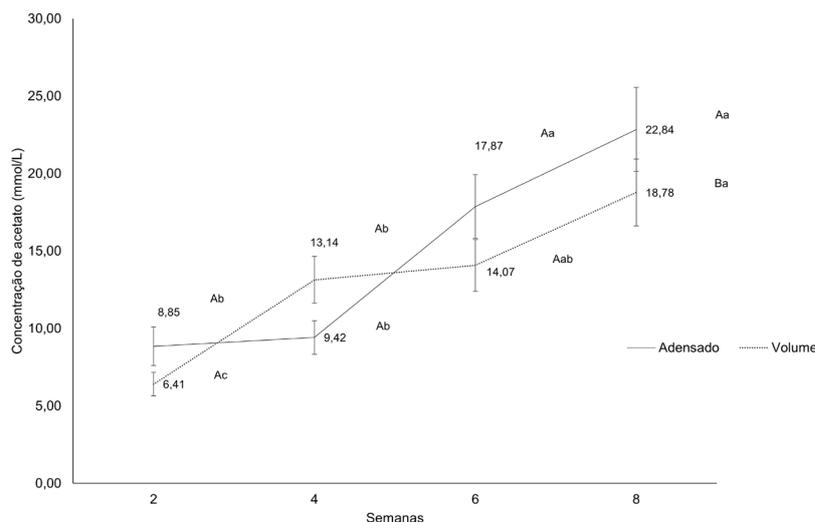


Figura 1. Concentração de acetato durante as semanas de avaliação dos tratamentos volume ou adensado. Letras maiúsculas representam diferença entre tratamentos e letras minúsculas representam diferença entre semanas ($P \leq 0,05$ pelo teste de Tukey).

Khan et al. (2007) avaliou bezerros Holandeses recebendo 10% do PV em dieta líquida por 44 dias, observou aumento da concentração de acetato, butirato, propionato e N-NH₃ em comparação com o grupo alimentado com leite a 20% do PV por 23 dias e 10% do PV a partir de 28 dias. Esses autores sugerem que animais que ingerem menor volume de leite consomem mais alimentos sólidos, dessa forma o desenvolvimento e a fermentação ruminal ocorrem precocemente. Azevedo et al. (2016) forneceu quantidades crescentes de sólidos totais na dieta líquida de bezerros e não observou diferença na concentração de AGVs e amônia entre os tratamentos.

Ao avaliar o efeito das semanas, a concentração dos AGVs e N-NH₃ foi crescente. Isso ocorre possivelmente devido ao fato do consumo de alimentos aumentar conforme o animal cresce, resultando em aumento da fermentação ruminal, com a produção crescente de AGVs e amônia ruminal. Rey et al. (2012) também observaram efeito da semana sobre a maior concentração de AGVs e N-NH₃.

A concentração de N-NH₃ foi maior para o tratamento volume. Ter uma maior porcentagem de nitrogênio amoniacal no rúmen de bezerros significa que há uma concentração elevada de amônia (NH₃) no ambiente ruminal desses animais. A importância do nitrogênio amoniacal no rúmen está na sua contribuição para a nutrição proteica dos animais ruminantes. Quando a concentração de amônia é adequada, ela promove o crescimento microbiano e, conseqüentemente, a síntese de proteínas que podem ser absorvidas pelo animal. No entanto, níveis excessivamente altos de nitrogênio amoniacal podem ser prejudiciais. Portanto, monitorar os níveis de nitrogênio amoniacal no rúmen é importante para garantir que a dieta dos bezerros seja adequada em termos de composição de nutrientes e que a fermentação ruminal esteja ocorrendo de maneira saudável e eficiente.

Conclusões

Fornecer uma dieta líquida com a mesma composição nutricional, mas com maior ou menor volume não influenciou o pH e as concentrações de propionato, butirato e a relação acetato:propionato, de bezerros da raça Holandesa. Entretanto, há efeito crescente da concentração de acetato, sendo maior para o tratamento adensado na semana 8 quando comparado ao tratamento volume. Além disso, a dieta líquida com maior volume aumenta as concentrações de nitrogênio amoniacal no rúmen.

Agradecimentos

À pesquisadora Mariana Campos, ao mestrando Saulo Mendes pelos ensinamentos e pela troca durante a realização do experimento. Aos meus amigos de estágio e a todos os funcionários da Embrapa Gado de Leite, em especial o Sr. Amarildo e Marcial pelos conselhos e orações. Ao CNPq pela bolsa de iniciação científica e à Fapemig pelo fomento ao projeto APQ-00996-22.

Referências

- AZEVEDO, R. A.; MACHADO, F. S.; CAMPOS, M. M.; LOPES, D. R. G.; COSTA, S. F.; MANTOVANI, H. C.; LOPES, F. C. F.; MARCONDES, M. I.; PEREIRA, L. G. R.; TOMICH, T. R.; COELHO, S. G. The effects of increasing amounts of milk replacer powder added to whole milk on passage rate, nutrient digestibility, ruminal development, and body composition in dairy calves. **Journal of dairy science**, v. 99, p. 1–13, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-11410>.
- JAFARI, A., A. AZARFAR, G. R. GHORBANI, M. MIRZAEI, M. A. KHAN, H. OMIDI-MIRZAEI, A. PAKDEL, AND M. H. GHAFFARI. Effects of physical forms of starter and milk allowance on growth performance, ruminal fermentation, and blood metabolites of Holstein dairy calves. **Journal of dairy science**, v. 103, p. 11300–11313, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18252>.
- KHAN, M. A.; LEE, H. J.; LEE, W. S.; KIM, H. S.; KI, K. S.; HUR, T. Y.; SUH, G. H.; KANG, S. J.; CHOI, Y. J. Structural Growth, Rumen Development, and Metabolic and Immune Responses of Holstein Male Calves Fed Milk Through Step-Down and Conventional Methods. **Journal of dairy Science**, v. 90, p. 3376–3387, 2007. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0104>.
- R CORE TEAM (2024). **R**: A Language and Environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. 2024. Disponível em: <http://www.R-project.org>. Acesso em: julho de 2024.
- REY, M.; ENJALBERT, F.; MONTEILS, V. Establishment of ruminal enzyme activities and fermentation capacity in dairy calves from birth through weaning. **Journal of dairy science**, v. 95, p. 1500–1512, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2011-4902>.
- ROSADIUK, J. P.; BRUINJÉ, T. C. ; MOSLEMIPUR, F. ; FISCHER-TLUSTOS, A. J. ; RENAUD, D. L. ; AMBROSE, D. J.; STEELE M. A. Differing planes of pre-and postweaning phase nutrition in Holstein heifers: I. Effects on feed intake, growth efficiency, and metabolic and development indicators. **Journal of dairy science**, v. 104, p. 1136–1152 DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18809>.

Identificação de áreas de vulnerabilidade para raiva em herbívoros no Estado do Rio de Janeiro no período de 2020 a 2023

Lucas Pavel Dias⁽¹⁾⁽⁴⁾, Ana Flávia Gomes Novaes⁽²⁾, Fúlvia de Fátima Almeida de Castro⁽²⁾, Guilherme Nunes de Souza⁽³⁾ e Marcos Cicarini Hott⁽³⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/CNPq.), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Estudante de pós-graduação, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾E-mail: lucas.pavel@estudante.ufjf.br.

Resumo — O objetivo do presente estudo foi avaliar uma metodologia de análise espacial dos casos de raiva em herbívoros para classificar regiões e municípios em diferentes categorias de vulnerabilidade. Foram usadas informações do Serviço Veterinário Oficial do Estado do Rio de Janeiro sobre os casos de raiva de acordo com os municípios do estado e com o ano de ocorrência dos casos. Os mapas para avaliação da vulnerabilidade para raiva foram elaborados por meio da interpolação por IDW para o número de casos de raiva em herbívoros no Estado do Rio de Janeiro no período de 2020 a 2023. Foram identificadas 5 áreas em função do número de casos de raiva no período, sendo que nos 4 municípios contidos nas duas áreas com maior incidência foram responsáveis por 45% dos casos de raiva identificados no período de estudo. As áreas identificadas em função do número de casos podem seguir uma classificação da vulnerabilidade para ser usada na elaboração de um mapa de risco para raiva, juntamente com uma classificação de receptividade, de forma a auxiliar na tomada de decisão em nível de região no controle e prevenção da doença.

Termos para indexação: mapa de risco, PNCRH, bovinos, equinos.

Density versus volume of liquid diet: effect on body development and performance of calves

Abstract — The objective of the present study was to evaluate a methodology for spatial analysis of rabies cases in herbivores to classify regions and municipalities into different vulnerability categories. Information from the Official Veterinary Service of the State of Rio de Janeiro was used on rabies cases according to the state's municipalities and the year in which the cases occurred. The maps to assess vulnerability to rabies were prepared through interpolation by IDW for the number of rabies cases in herbivores in the State of Rio de Janeiro in the period from 2020 to 2023. Five areas were identified depending on the number of rabies cases during the period, and the 4 municipalities contained in the two areas with the highest incidence were responsible for 45% of the rabies cases identified during the study period. The areas identified based on the number of cases can follow a vulnerability classification to be used in the preparation of a risk map for rabies, together with a receptivity classification, in order to assist in decision-making at the region level in the control and disease prevention.

Index terms: risk map, PNCRH, cattle, equid.

Introdução

No Brasil, entre os anos 2000 e 2017, 188 casos de raiva foram registrados em seres humanos, sendo 126 em áreas rurais, correspondendo a 67% dos casos. Nas áreas rurais no Brasil, o bovino é a espécie mais acometida pela doença, além de representar potencial zoonótico, também representando impacto econômico para a pecuária. As diretrizes para o controle e prevenção da raiva em herbívoros estão apresentadas no Manual Técnico do Programa Nacional de Controle da Raiva em Herbívoros (PNCRH) (Brasil, 2009), o qual estabelece metas e formas de combate ao vírus, e visa melhorar suas formas de controle e prevenção. Uma das ações do PNCRH é a elaboração de mapas de risco para a raiva com base na ocorrência dos casos em um determinado período de tempo de forma que seja possível direcionar recursos financeiros e humanos para regiões de maior ocorrência da doença com objetivo de realizar o controle e prevenção. Estes mapas são elaborados em nível de estado, considerando as definições sobre receptividade e vulnerabilidade, e servem como ferramenta para tomada de decisão em nível de região para o Serviço Veterinário Oficial (SVO) de cada estado da federação. No PNCRH, receptividade é o conjunto de variáveis que expressam a capacidade do ecossistema albergar populações do morcego hematófago (*Desmodus rotundus*), como, por exemplo, fatores determinantes ligados à disponibilidade de alimentos e de abrigos como densidade de herbívoros por área útil e a densidade de herbívoros por área de pastagem. Vulnerabilidade é o conjunto de fatores relacionados à capacidade de ingresso do morcego em uma área e a circulação viral, como por exemplo os casos de raiva em herbívoros. O modelo preditivo de risco para raiva deverá contar tanto com indicadores de receptividade como de vulnerabilidade. O objetivo do presente estudo foi elaborar mapas do Estado do Rio de Janeiro com definição de áreas com diferentes graus de vulnerabilidade para raiva em função dos casos de raiva de herbívoros confirmados pelo Serviço Veterinário Oficial (SVO) do estado no período de 2020 a 2023.

O conteúdo desse documento 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 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

Foi estruturada uma base de dados georreferenciada dos casos de raiva em herbívoros no estado do Rio de Janeiro no período de 2020 a 2023 no arquivo em Excel, referentes aos casos informados ao SVO, com as seguintes variáveis: mesorregião e municípios com focos positivos, além de contabilizados os números de casos positivos de bovinos e equinos de acordo com os anos. Os mapas para avaliação da vulnerabilidade para raiva foram elaborados por meio da interpolação por IDW (*Inverse Distance Weighting*), a qual é uma ponderação pelo inverso da distância (Lu, Wong, 2008), para o número de casos de raiva em herbívoros no Estado do Rio de Janeiro no período de 2020 a 2023 (Isaaks; Srivastava, 1989; Bailey; Gatrell, 1995).

Resultados e discussão

Foram registrados entre 2020 e 2023 um total de 119 casos positivos para raiva dos herbívoros no estado do Rio de Janeiro, sendo 109 casos em bovinos (91,6%) e 10 em equinos (8,4%). Destes 119 casos, 89 (75%) ocorreram em 11 municípios (12%) (Valença, Miracema, Rio das Flores, Santo Antônio de Pádua, Porciúncula, Cambuci, Itaperuna, Paraíba do Sul, Magé, Barra do Piraí e Casemiro de Abreu) do total de 92 municípios do estado.

Observou-se por meio da Figura 1, duas áreas com maior incidência de casos de raiva, variando de 12 casos a 21 casos no período estudado (área em vermelho), onde os municípios de Miracema e Valença foram os principais identificados. Os municípios vizinhos a Miracema e Valença, Santo Antônio de Pádua e Valença (Figuras 2 e 3), respectivamente, apresentaram a segunda maior incidência de casos de raiva, variando de 8 casos a 12 casos no período (área laranja). Ressalta-se que nos 4 municípios com as duas maiores incidências foram identificados 54 (45%) do total de 119 casos. As três outras áreas identificadas no estudo, em amarelo, verde escuro e verde claro, apresentaram incidência de 4 casos a 8 casos, 2 casos a 4 casos e de 1 caso a 2 casos de raiva no período estudado. Os resultados observados no estudo mostraram uma possível classificação de áreas no Estado do Rio de Janeiro para o quesito vulnerabilidade estabelecido no PNCRH. Os municípios contidos nestas áreas podem apresentar a mesma classificação para vulnerabilidade, porém o mapa de risco a ser elaborado conforme o manual técnico do PNCRH deve-se considerar a vulnerabilidade e a receptividade.

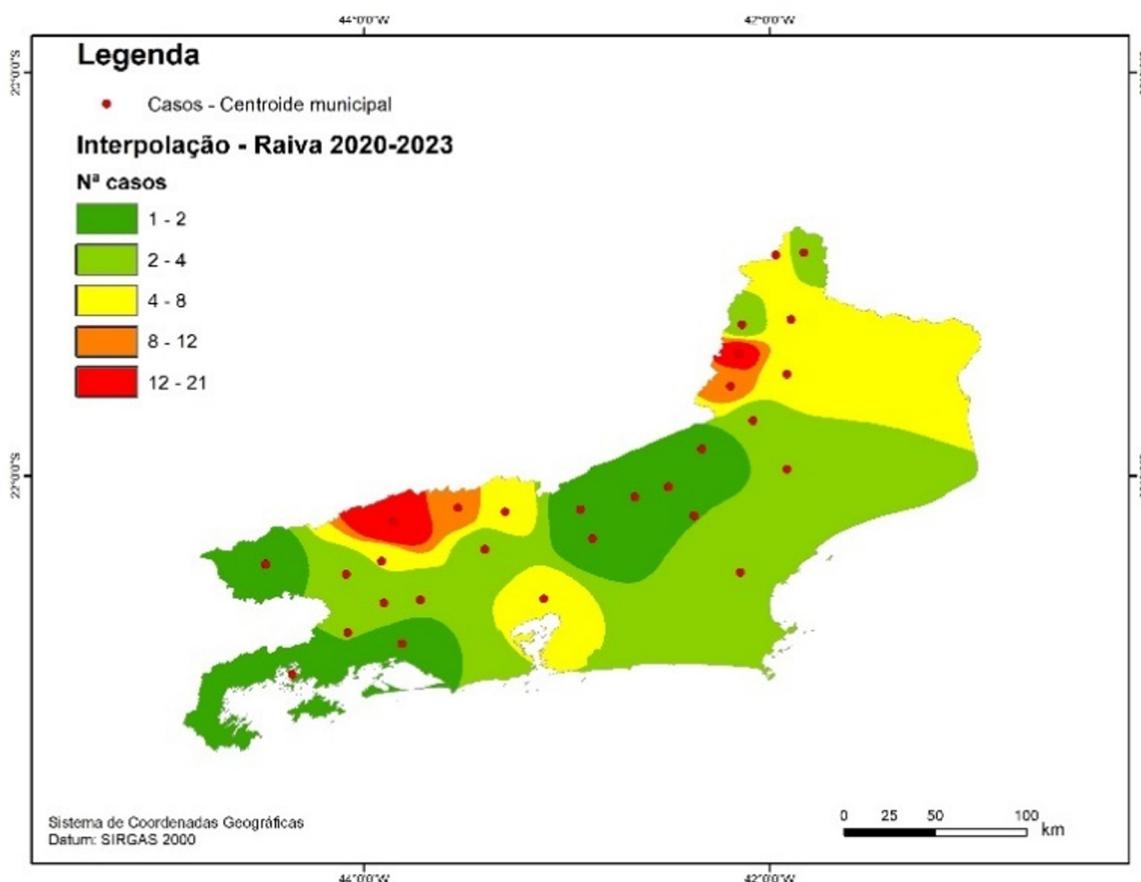


Figura 1. Mapa com a interpoção do número de casos de raiva para o Estado do Rio de Janeiro no período de 2020 a 2023.

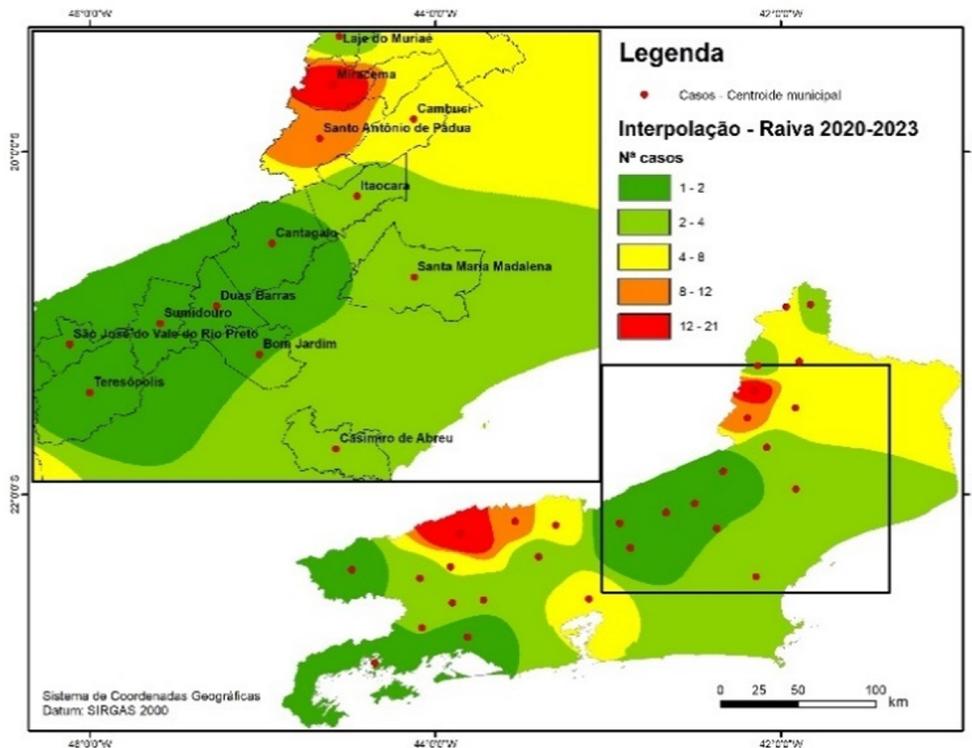


Figura 2. Mapa com a interpoção do número de casos de raiva, com a ampliação para a região central e norte do Estado do Rio de Janeiro no período de 2020 a 2023.

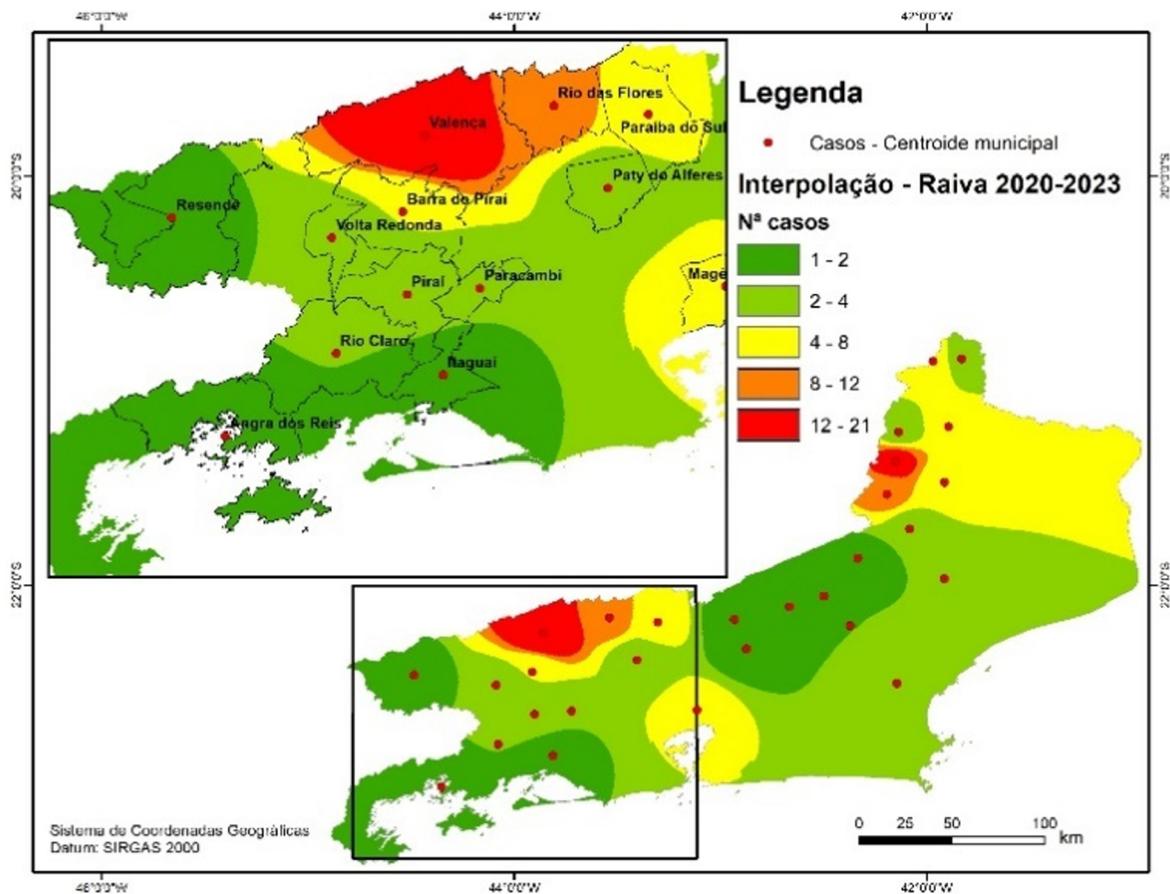


Figura 3. Mapa com a interpoção do número de casos de raiva, com a ampliação para a região sul e oeste do Estado do Rio de Janeiro no período de 2020 a 2023.

Conclusões

Os resultados do estudo mostraram que a interpolação por IDW para o número de casos de raiva em herbívoros no Estado do Rio de Janeiro no período de 2020 a 2023 pode ser uma metodologia para classificar a vulnerabilidade de áreas e conseqüentemente municípios, um dos componentes a serem usados, juntamente com a receptividade, para elaboração de mapas de risco, de forma que auxilie o SVO na tomada de decisão em nível de região em relação ao controle e prevenção da doença.

Agradecimentos

Ao apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Brasil, pela cessão da Bolsa PIBIC. À Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária, Pesca e Abastecimento (SEAPPA) do Estado do Rio de Janeiro pela cessão dos dados .

Referências

BAILEY, T. C.; GATRELL, A. C. **Interactive spatial data analysis**. London: Longman, 1995. 413 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Controle da raiva dos herbívoros**: manual técnico 2009. Brasília, DF, 2009. 124 p.

ISAAKS, E. H.; SRIVASTAVA, R. M. **An introduction to applied geostatistics**. Oxford: Oxford University, 1989. 561 p.

LU, G. Y.; WONG, D. W. An adaptive inverse-distance weighting spatial interpolation technique. **Computers & Geosciences**, v. 34, n. 9, p. 1044-1055, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cageo.2007.07.010>.

Desenvolvimento de LAMP PCR para Diagnóstico de Babesiose Causada por *Babesia bigemina*

Raíssa Cury Ferreira⁽¹⁾⁽⁵⁾, Nicole Tafnes de Brito Silva Honório⁽²⁾, Cinthia de Carvalho Coutinho⁽²⁾, Lidiane Loeffler Lima⁽¹⁾, Leticia Milena de Jesus⁽¹⁾, Daniele Ribeiro de Lima Reis Faza⁽³⁾, Robert Domingues⁽³⁾, Marco Antônio Machado⁽⁴⁶⁾, Emanuelle Baldo Gaspar⁽⁴⁾ e Marta Fonseca Martins⁽⁴⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/CNPq.), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Estudante de graduação, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾Pesquisadores, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG.

⁽⁵⁾E-mail: raissacuryferreira08@gmail.com.

Resumo — A Tristeza Parasitária Bovina (TPB) causa grandes perdas econômicas na pecuária, especialmente em áreas tropicais, devido a protozoários como *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*, e a bactéria *Anaplasma marginale*. Diagnósticos convencionais, limitados em sensibilidade, impulsionam o interesse por técnicas moleculares, como a amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP), que oferece maior precisão e rapidez. Este estudo visou desenvolver um método LAMP PCR para diagnóstico de TPB, utilizando primers específicos para *Babesia bigemina*. Após incubação a 95 °C, as amostras de DNA foram submetidas por reação de LAMP em um termociclador por temperatura constante. Os resultados mostraram eficácia na detecção de *Babesia bigemina*, confirmada por mudança de cor nas amostras devido ao pH. Estudos anteriores em doenças como COVID-19 demonstraram a eficiência da LAMP, sugerindo sua aplicabilidade em TPB. Com isto, futuros passos incluem otimização dos primers, testes em PCR em tempo real, e validação do método em diversas amostras, visando um diagnóstico robusto e eficiente para TPB e outras doenças bovinas.

Termos para indexação: tristeza parasitária bovina, amplificação isotérmica, bovinocultura, saúde animal.

Development of LAMP PCR for the Diagnosis of Babesiosis Caused by *Babesia bigemina*

Abstract — Tick-borne disease causes significant economic losses in livestock, especially in tropical areas, due to protozoa such as *Babesia bovis* and *Babesia bigemina*, and the bacteria *Anaplasma marginale*. Conventional diagnosis are limited in sensitivity and drive interest in molecular techniques such as loop-mediated isothermal amplification (LAMP), which offers greater precision and speed. This study aimed to develop a LAMP PCR method for babesiosis diagnostic using specific primers for *Babesia bigemina*. After denaturation, DNA samples were submitted by the LAMP reaction in a thermocycler. Results showed efficacy in detecting *Babesia bigemina*, confirmed by a color change in samples due to pH. Previous studies on diseases such as COVID-19 have demonstrated LAMP's efficiency, suggesting its applicability for that disease. Future steps include primer optimization, real-time PCR testing, and method validation in various samples, aiming for a robust and efficient diagnosis for babesiosis and other bovine diseases.

Index terms: bovine parasitic sadness, isothermal amplification, cattle farming, animal health.

Introdução

A Tristeza Parasitária Bovina (TPB) é uma doença que provoca grandes perdas econômicas na pecuária global, especialmente em áreas tropicais e subtropicais, onde a infestação por carrapatos é mais prevalente. Os principais causadores da TPB são os protozoários *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*, juntamente com a bactéria *Anaplasma marginale*, todos transmitidos por carrapatos do gênero *Rhipicephalus* (Silva et al., 2021). A complexidade do ciclo de vida desses patógenos e a sua interação com o gado bovino tornam o controle da doença um desafio, aumentando a necessidade de diagnósticos rápidos e precisos (Santos et al., 2017).

Além disso, o diagnóstico convencional da TPB é realizado por meio de métodos sorológicos e de microscopia, que, embora amplamente utilizados, têm limitações em termos de sensibilidade e especificidade, especialmente durante períodos em que a carga parasitária é baixa (Cadioli et al., 2015). Em tais períodos, a detecção por métodos tradicionais torna-se difícil, comprometendo a eficácia do controle da doença. Portanto, há um crescente interesse no desenvolvimento de técnicas moleculares que ofereçam maior precisão e rapidez na identificação dos patógenos envolvidos (Costa et al., 2021).

Nesse contexto, a técnica de amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP) tem se destacado como uma ferramenta promissora no diagnóstico molecular de várias doenças infecciosas, incluindo a TPB. Diferente da PCR tradicional, a LAMP requer menos recursos para a amplificação do DNA, simplificando o procedimento e reduzindo os custos operacionais (Nunes, 2013). Além disso, a LAMP é reconhecida por sua alta sensibilidade, especificidade e, ainda, por não necessitar mudanças cíclicas de temperatura como a PCR o que a torna uma opção viável para a detecção de patógenos em campo (Parida et al., 2008).

Estudos anteriores demonstraram a eficácia da LAMP na detecção de diferentes patógenos, como *Trypanosoma vivax*, com resultados promissores mesmo em condições de campo (Cadioli et al., 2015). A habilidade da LAMP de amplificar DNA a partir de baixas concentrações é particularmente útil para diagnósticos durante períodos de baixa parasitemia, um desafio comum no manejo da TPB. Essa característica é essencial para intervenções precoces e eficazes, prevenindo a progressão da doença e suas repercussões econômicas (Ferreira, 2019).

Portanto, este estudo teve como objetivo desenvolver um novo método de diagnóstico para Tristeza Parasitária Bovina pelo LAMP PCR.

O conteúdo desse documento 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 1 – “Erradicação da pobreza: Acabar com a pobreza em todas as suas formas, em todos os lugares”; 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

Foi testada uma amostra de DNA extraído de sangue bovino infectado com *Babesia bigemina*. A LAMP utilizou um conjunto específico de primers

para *Babesia bigemina*, descritos por Iseki et al. (2007): primers internos 5' CCTAACCAAACGCTTCAACGCCGAATTCTTGCTTTCACAACCTCGCCTG 3' (FIP) e 5' AGCAACCTTCCCGTTGACCTTGAATTCCATCATGTACTCGCCGTAGC 3' (BIP), que são longos e se ligam a locais distantes no molde de DNA; e os primers externos 5' CGGCGGCTAAGTTCTTCAA 3' (F3) e 5' GAACGAGGTCATCGCAGG 3' (B3), que são mais curtos e se ligam mais lentamente devido às suas menores concentrações; A combinação desses primers, juntamente com a Bst DNA polimerase se ativa entre 60-65 °C.

A amostra foi diluída em duplicata de 6 pontos de uma diluição seriada na base dois, para que as concentrações finais fossem de 25,0, 12,5, 5,00, 2,5, 1,25 e 0,5 ng/μL e foram submetidas a um tratamento térmico específico no termociclador: foram incubadas a 95 °C por 5 minutos para a desnaturação do DNA e, em seguida, rapidamente resfriadas em gelo por 5 minutos para evitar o reanelamento das fitas de DNA.

Para a reação de LAMP, foi preparado o mix com os seguintes reagentes: 0,1 μL de água ultrapura, 7,5 μL de tampão a 1X de concentração, 2,4 μL de cada um dos primer FIP e BIP e 0,3 μL de cada um dos primers F3 e B3 (cada primer a 24 μM de concentração). Em seguida, 11 μL desse mix foram adicionados a cada microtubo, junto com 4 μL do DNA previamente diluído. Após a adição do mix, as amostras retornaram ao termociclador por um ciclo de 64 °C por 90 minutos e 80 °C por 5 minutos. Após isso, foi feita a análise dos resultados por meio da observação de troca de cor de rosa para amarelo/alaranjado.

Resultados e discussão

Os resultados obtidos indicaram que o método de LAMP PCR desenvolvido foi praticamente eficaz na detecção de *Babesia bigemina* na amostra de DNA bovino testada. A confirmação da amplificação bem-sucedida foi visualizada pela mudança de cor devido à alteração do pH. A amostra, por ser positiva, apresentou uma mudança de cor característica para amarelo, confirmando a amplificação do DNA alvo. O controle negativo (branco) manteve-se inalterado (cor rosa), indicando que não houve contaminação cruzada ou amplificação não específica.

A mudança de cor na amostra positiva ocorreu devido à produção de ácido durante a amplificação do DNA, resultando em uma alteração no pH do meio de reação. O indicador de pH incorporado no mix de reação proporcionou uma visualização clara e direta dos resultados. O branco se manteve incolor garantindo que o resultado positivo observado na amostra não fosse devido a contaminação ou erro técnico. Outro resultado interessante é de que a positividade da reação aparentou ser inversamente proporcional à quantidade de DNA total (*Bos taurus* + *B. bigemina*), ficando as reações com menos DNA mais amareladas. Tal resultado pode indicar tanto a presença de inibidores de amplificação nas amostras, que pode ser até mesmo o DNA genômico bovino, quanto levantar questões quanto à sensibilidade da técnica, sendo necessárias mais padronizações quanto ao input inicial de DNA na reação.

Estudos anteriores sobre a aplicação da LAMP em outras doenças infecciosas, como a COVID-19, também demonstraram resultados promissores. Por exemplo, Huang et al. (2020) desenvolveram um teste de LAMP para SARS-CoV-2, o vírus responsável pela COVID-19, que mostrou alta sensibilidade e especificidade, similar aos métodos tradicionais de PCR em tempo real, mas com a vantagem de ser mais rápido e não requerer equipamentos complexos. Da mesma forma, Yamazaki et al. (2021) demonstraram a eficácia da LAMP na detecção de *Trypanosoma evansi*, um patógeno relevante na medicina veterinária, confirmando a versatilidade e aplicabilidade desta técnica em diferentes contextos.

A perspectiva é continuar com mais testes, a fim de desenvolver um método de LAMP PCR para o diagnóstico da Tristeza Parasitária Bovina. Os próximos passos incluem o desenho de novos primers para aumentar a especificidade e sensibilidade da técnica, a realização de testes em PCR em tempo real para comparação dos resultados, e a validação do método em amostras de soro e sangue, além de DNA extraído. Também será fundamental testar a técnica com primers para *Babesia bovis* e *Anaplasma marginale*, visando desenvolver uma abordagem robusta e eficiente para o diagnóstico de TPB. A continuidade deste trabalho contribuirá para a sustentabilidade da pecuária em regiões endêmicas, fornecendo uma ferramenta diagnóstica rápida, precisa e de baixo custo, essencial para o controle eficaz da Tristeza Parasitária Bovina.

Conclusões

A partir dos primers escolhidos, foi possível identificar a presença de *Babesia bigemina* DNA extraído de sangue bovino infectado com *Babesia bigemina* por meio da técnica de LAMP PCR, confirmado pela mudança de cor nas amostras positivas.

Agradecimentos

Ao apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Brasil. À Embrapa Gado de Leite pela oportunidade da bolsa recebida do Programa Pibic, o que nos proporcionou obter experiência e aprendizado; à pesquisadora Marta Martins pelo acompanhamento, orientação e apoio durante o período de estudos e treinamento.

Referências

- CADIOLI, F. A.; FIDELIS JÚNIOR, O. L.; SAMPAIO, P. H.; SANTOS, G. N.; ANDRÉ, M. R.; CASTILHO, K. J. G. de A.; MACHADO, R. Z. Detection of *Trypanosoma vivax* using PCR and LAMP during aparasitemic periods. **Veterinary Parasitology**, v. 214, n. 1/2, p. 174-177, 2015. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.09.001>.
- COSTA, M. O.; CARVALHO, M. R.; GOMES, L. G.; STOCCO, M. B.; SPILLER, P. R.; FARIA, E. F.; NOGUEIRA, E. N. N. C.; DALL'ACQUA, P. C.; PAULA, E. M. N.; MENDES, A. C. M. Os desafios do complexo da tristeza parasitária bovina TPB. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 6, e58010616148, 2021. DOI: <http://doi.org/10.33448/rsd-v10i6.16148>.
- FERREIRA, T. A. A. **Diagnóstico molecular e taxas de infecção de *Anaplasma marginale* e *Babesia bovis* em rebanhos bovídeos e artrópodes parasitas na Amazônia**. 2019. 45 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Aplicada a Agropecuária) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufra.edu.br/jspui/handle/123456789/883>. Acesso em: 13 jun. 2024.
- HUANG, W. E.; LIM, B.; HILLIER, A.; YE, L.; TANG, T.; WU, N.; LI, Y.; COOMBS, N. J. RT-LAMP for rapid diagnosis of coronavirus SARS-CoV-2. **Microbial Biotechnology**, v. 13, n. 4, p. 950-961, 2020. DOI: <http://doi.org/10.1111/1751-7915.13586>.
- ISEKI, H.; ALHASSAN, A.; OHTA, N.; THEKISOE, O.; YOKOYAMA, N.; INOUE, N.; NAMBOTA, A.; YASUDA, J.; IGARASHI, I. Development of a multiplex loop-mediated isothermal amplification (mLAMP) method for the simultaneous detection of bovine *Babesia* parasites. **Journal of Microbiological Methods**, v. 71, n. 3, p. 281-287, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.09.019>.
- KUMAR, B.; MAHARANA, B. R.; BRAHMBHATT, N. N.; THAKRE, B. J.; PARMAR, V. L. Development of a loop-mediated isothermal amplification assay based on RoTat1.2 gene for detection of *Trypanosoma evansi* in domesticated animals. **Parasitology Research**, v. 120, n. 5, p. 1873-1882, 2021. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00436-021-07118-7>.

NUNES, M. de L. **Aplicação da técnica Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) no desenvolvimento de um teste para o diagnóstico da peste**. 2013. 74 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Saúde Pública) - Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2013. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/31939>. Acesso em: 13 jun. 2024.

PARIDA, M.; SANNARANGAIAH, S.; DASH, P. K.; RAO, P. V.; MORITA, K. Amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP): uma nova geração de técnica inovadora de amplificação genética; perspectivas no diagnóstico clínico de doenças infecciosas. **Reviews in Medical Virology**, v. 18, n. 6, p. 407-421, 2008. DOI: <http://doi.org/10.1002/rmv.593>.

SANTOS, G. B.; GOMES, I. M. M.; SILVEIRA, J. A. G.; PIRES, L. C. S. R.; AZEVEDO, S. S.; ANTONELLI, A. C.; RIBEIRO, M. F. B.; HORTA, M. C. Tristeza Parasitária em bovinos do semiárido pernambucano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 1, p. 1-7, 2017. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0100-736X2017000100001>.

SILVA, T. F.; ALVES-SOBRINHO, A. V.; LIMA, L. F. S.; ZIEMNICZAK, H. M.; FERRAZ, H. T.; LOPES, D. T.; SILVA, V. L. D.; BRAGA, Í. A.; SATURNINO, K. C.; RAMOS, D. G. S. Tristeza parasitária bovina: revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, e15410111631, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i1.11631>.

Formação de biofilme por *Moraxella* spp. isoladas em surtos de Ceratoconjuntivite Infecçiosa Bovina no Brasil

Cinthia de Carvalho Coutinho⁽¹⁾⁽²⁾, Clarissa Vidal de Carvalho⁽¹⁾⁽²⁾, Raíssa Cury Ferreira⁽²⁾⁽³⁾, Robert Domingues⁽³⁾, Daniele Ribeiro de Lima Reis Faza⁽⁴⁾, Alessandra Barbosa Ferreira Machado⁽⁵⁾, Yasmin Neves Vieira Sabino⁽⁶⁾, Emanuelle Baldo Gaspar⁽⁷⁾, Joao Claudio do Carmo Panetto⁽⁷⁾ e Marta Fonseca Martins⁽⁷⁾

⁽¹⁾Estudante de graduação, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Bolsista (Pibic/CNPq), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾Estudante de graduação, Universidade Presidente Antônio Carlos, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁵⁾Professora Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. ⁽⁶⁾Bolsista CNPq., Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁷⁾Pesquisadores, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG.

Resumo — A Ceratoconjuntivite Infecçiosa Bovina (CIB) é uma doença ocular comumente observada em bovinos ao redor do mundo. A CIB, apesar de ter baixa mortalidade, representa uma preocupação significativa para produtores de leite devido ao impacto econômico decorrente da redução do bem-estar animal e da produtividade. Além disso, há uma escassez de dados epidemiológicos acerca dessa doença no Brasil. Bactérias do gênero *Moraxella*, especialmente *Moraxella bovis* e *Moraxella bovoculi*, são frequentemente associadas à CIB, sendo *M. bovis* a única espécie com patogenicidade confirmada. Recentemente, *Moraxella oculi* e *Moraxella* sp. foram descritas em casos clínicos da doença, mas a contribuição específica dessas bactérias no desenvolvimento da CIB ainda não foi definida, exigindo investigações adicionais. O tratamento para ceratoconjuntivite é baseado na remediação sintomática, sendo um processo onerosa e dificultada pela formação de biofilmes bacterianos, que favorecem a cronicidade das infecções. Desse modo, este estudo teve como objetivo avaliar a capacidade de formação de biofilme de linhagens de *Moraxella bovis*, *Moraxella bovoculi*, *Moraxella oculi* e *Moraxella* sp. isoladas de casos de CIB utilizando o protocolo adaptado de cristal violeta. Os resultados indicaram que *M. bovoculi*, *M. oculi* e *Moraxella* spp. apresentam forte capacidade de formação de biofilme, enquanto *M. bovis* mostrou capacidade fraca. Esses achados ressaltam a necessidade do desenvolvimento estratégias terapêuticas mais eficazes que levem em consideração a resistência bacteriana promovida por biofilmes.

Termos para indexação: *Moraxella bovis*, *Moraxella bovoculi*, *Moraxella oculi*, CIB, protocolo de cristal violeta.

Density versus volume of liquid diet: effect on body development and performance of calves

Abstract — Infectious Bovine Keratoconjunctivitis (IBK) is an ocular disease commonly observed in cattle worldwide. Although IBK has low mortality, it is a significant concern for dairy producers due to the economic impact resulting from decreased animal welfare and productivity. Additionally, there is a scarcity of epidemiological data regarding this disease in Brazil. Bacteria of the genus *Moraxella*, particularly *Moraxella bovis* and *Moraxella bovoculi*, are frequently associated with IBK, with *M. bovis* being the only species with confirmed pathogenicity. Recently, *Moraxella oculi* and *Moraxella* sp. have been described in clinical cases of the disease, but the specific contribution of these bacteria to the development of IBK has not yet been defined, necessitating further investigation. Treatment for keratoconjunctivitis is based on symptomatic remediation, which is a costly process complicated by bacterial biofilm formation, which promotes infection chronicity. Thus, this study aimed to evaluate the biofilm formation capability of strains of *Moraxella bovis*, *Moraxella bovoculi*, *Moraxella oculi*, and *Moraxella* sp. isolated from IBK cases using the adapted crystal violet protocol. The results indicated that *M. bovoculi*, *M. oculi*, and *Moraxella* spp. exhibited strong biofilm

formation capability, while *M. bovis* showed weak capacity. These findings highlight the need for the development of more effective therapeutic strategies that account for bacterial resistance promoted by biofilms.

Index terms: *Moraxella bovis*, *Moraxella bovoculi*, *Moraxella oculi*, IBK, crystal violet assay.

Introdução

A Ceratoconjuntivite Infecciosa Bovina (CIB) é uma doença ocular de alta morbidade e rápida disseminação frequentemente observada em bovinos ao redor do mundo. Embora seja utilizada como um termo “guarda-chuva” para diversas doenças oculares bovinas, Kneipp (2021) propõe a caracterização da CIB a partir de quadro clínico com a presença de aumento da lacrimação, epífora, conjuntivite serosa ou mucopurulenta e ceratite. Bactérias do gênero *Moraxella*, como *M. bovis* e *M. bovoculi*, são comumente isoladas em casos de CIB, embora somente a espécie *M. bovis* tenha sua patogenicidade confirmada (Loy et al., 2021). *Moraxella oculi* (Wilkes et al., 2024) e *Moraxella* spp. foram recentemente isoladas em animais apresentando sinais clínicos da doença, porém a relação dessas bactérias com o desenvolvimento da CIB é ainda indefinida. Dessa forma, a caracterização dessas espécies e sua relação com a doença demandam investigações adicionais para esclarecer a contribuição potencial de *Moraxella* spp. ao quadro clínico observado.

Embora a CIB apresente baixa mortalidade, a doença ainda causa grande preocupação entre os produtores de leite devido ao impacto econômico ocasionado e pelos danos ao bem-estar animal. A ausência de dados epidemiológicos e de um diagnóstico específico para a condição dificultam a aferição direta dos prejuízos financeiros associadas aos surtos de CIB. O impacto ao bem-estar animal, contudo, é apontado como fator indireto de perda econômica, uma vez que os animais acometidos pela CIB apresentam dificuldade para ganhar peso e têm a sua produtividade reduzida (Dennis; Kneipp, 2021).

O tratamento da doença também é apontado como uma das principais fontes de gastos relacionada à CIB. Como as causas e a fisiopatologia da doença ainda não estão totalmente esclarecidas, as estratégias de tratamento geralmente focam na remediação dos sintomas ou no combate a um potencial patógeno inespecífico. Linhagens patogênicas geralmente apresentam forte capacidade de adesão celular como um de seus fatores de virulência, sendo essa uma característica crucial para a formação e estabilidade de biofilmes (Ely et al., 2019). O biofilme bacteriano não apenas facilita a persistência das células no ambiente e nos hospedeiros, mas também está associada à cronicidade das infecções e dificuldades terapêuticas. Portanto, analisar a capacidade de formação de biofilme por isolados bacterianos advindos de casos de CIB é fundamental para compreender a patogênese da doença e para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas direcionadas. Assim, este estudo teve como objetivo determinar a capacidade de produção de biofilme por diferentes espécies de *Moraxella* isoladas de casos de CIB a partir do protocolo modificado de coloração com cristal violeta.

O conteúdo desse documento 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 1 – “Erradicação da pobreza: Acabar com a pobreza em todas as suas formas, em todos os lugares”; 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

As culturas de *Moraxella* utilizadas neste estudo foram previamente isoladas de olhos e narinas de bovinos com sinais clínicos iniciais de CIB em rebanhos de cidades do Rio Grande do Sul (Alegrete, Uruguaiana e Dom Pedrito) e de Minas Gerais (Coronel Pacheco). Os isolados foram previamente identificados por sequenciamento do tipo Sanger da região espaçadora intergênica do rRNA 16S-23S como *Moraxella bovis* P49 e 7220OD, *Moraxella bovoculi* 150OE e 2135OD1, *Moraxella oculi* 2117OE2 e 2153OD2 e *Moraxella* sp 7664RN e 7624LN.

O protocolo do cristal violeta proposto por Stepanovic (2007) foi adaptado e utilizado para a avaliação quantitativa da formação de biofilme. As bactérias foram cultivadas em Ágar-Sangue por pelo menos 24 h a 35 °C com posterior transferência de 5 colônias a 10 colônias para microtubos contendo 3 mL de meio *Brain Heart Infusion* (BHI, Kaski) ou *Tryptic Soy Broth* (TSB, Acumedia). Os pré-inóculos foram então incubados a 35 °C sem e com agitação a 200 rpm por 48 h para comparação das melhores condições de crescimento. Após este período os tubos foram vortexados por 30 seg para homogeneização da cultura e a absorbância das amostras foi medida a 600 nm em espectrofotômetro EON (BioTek). A DO 600 nm inicial foi então ajustada para 0,05. Para preparação do inóculo, aproximadamente 200 µL de cada amostra foram transferidos para uma microplaca de 96 poços com posterior incubação a 35 °C por 24 h. Após o período de crescimento, os poços foram lavados 3 vezes com 300 µL de tampão fosfato-salino (PBS 1x, pH 7,2) para eliminação das células não aderidas e secados à temperatura ambiente por 30 min em capela de fluxo. As amostras foram fixadas com 200 µL de metanol 99% por 15 min e coradas com o mesmo volume de solução de cristal violeta 2% por 5 min. O excesso de corante foi lavado em água corrente e o restante ressuspenso em 200 µL de solução de ácido acético 33%. A formação do biofilme foi mensurada por meio da leitura da DO a 570 nm das amostras. A interpretação dos resultados obtidos foi feita de acordo com Stepanovic (2007), onde a formação do biofilme é classificação em ausente, fraca, moderada ou forte. O experimento foi realizado em triplicata técnica e duplicata biológica.

Resultados e discussão

O valor da DO do branco utilizado como referência para a classificação das linhagens foi de 0,07. Portanto, bactérias com $DO < 0,07$ não foram consideradas produtoras de biofilme; aquelas com $0,07 < DO < 0,14$ foram classificadas como fraca produtoras, enquanto as com DO entre 0,14 e 0,28 foram categorizadas como produtoras moderadas de biofilme. Culturas com $DO > 0,28$ foram consideradas como forte produtoras de biofilme. *Moraxella bovoculi*, *Moraxella oculi*, e *Moraxella* spp., demonstraram forte capacidade de formação de biofilme em todas as condições de crescimento, enquanto ambos os isolados de *M. bovis* apresentaram fraca capacidade de produção de biofilme quando crescidas em TSB e ausente em BHI, conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1. Classificação da produção de biofilme de acordo com o valor médio da DO 570 nm final obtido por cada linhagem dos isolados do gênero *Moraxella* em diferentes meios com (+) e sem (-) agitação.

Espécie	Isolado	Origem	Coleta	BHI -	BHI +	TSB -	TSB +
<i>Moraxella bovis</i>	P49	Alegrete, RS	2018	Ausente (0,039)	Ausente (0,043)	Fraca (0,1)	Forte (0,316)
<i>Moraxella bovis</i>	7220OD	Dom Pedrito, RS	2018	Ausente (0,042)	Ausente (0,048)	Fraca (0,104)	Fraca (0,129)
<i>Moraxella bovoculi</i>	150OE	Uruguaiana, RS	2018	Forte (1,887)	Forte (0,992)	Forte (0,707)	Forte (1,053)
<i>Moraxella bovoculi</i>	2135OD1	Coronel Pacheco, MG	2022	Forte (1,960)	Forte (1,908)	Forte (1,005)	Forte (0,902)
<i>Moraxella oculi</i>	2117OE2	Coronel Pacheco, MG	2022	Forte (0,478)	Forte (0,432)	Forte (0,296)	Forte (0,477)
<i>Moraxella oculi</i>	2153OD2	Coronel Pacheco, MG	2022	Forte (0,462)	Forte (0,650)	Forte (0,364)	Forte (0,353)
<i>Moraxella</i> sp.	7664RN	Dom Pedrito, RS	2018	Forte (0,575)	Forte (0,406)	Forte (0,482)	Forte (0,406)
<i>Moraxella</i> sp.	7624LN	Dom Pedrito, RS	2018	Forte (0,435)	Moderada (0,226)	Forte (1,014)	Forte (0,621)

A baixa adesão e produção de biofilme por *M. bovis* não está de acordo com o registrado na literatura disponível. Ely (2018) relatou grande produção de biofilme pela espécie ao realizarem o mesmo teste com o cultivo de isolados da espécie em TSB estático. O baixo resultado obtido para *M. bovis* pode ter sido ocasionado pelo fato de P49 e 7220OD se tratarem de linhagens não formadoras de biofilme, vide ser comum a observação de variabilidade do nível de produção dentro de uma mesma espécie (Branda, 2005).

Durante o preparo do teste, também foram observadas diferenças na consistência do material aderido ao fundo dos poços. *M. bovoculi* e *Moraxella* spp. mostraram adesão homogênea, enquanto *M. bovis* e *M. oculi* formaram grumos no fundo dos recipientes. Também foi possível observar de forma inconstante entre as culturas a formação de uma película microbiana na superfície do meio líquido de cultura. Branda (2005) classifica a formação película como um tipo de biofilme sobrenadante. Por não estar aderido diretamente à placa de titulação, o biofilme flutuante produzido pelas linhagens de *Moraxella* é perdido durante o procedimento de lavagem dos poços resultando em um resultado falso negativo.

Os dados obtidos permitiram confirmar a capacidade de produção de biofilme por espécies de *Moraxella* associadas à CIB. No entanto, por mais que o protocolo original reconhecesse a possibilidade de formação de biofilme flutuante, sua perda era inevitável durante o processo de lavagem dos poços. Dessa forma, é necessário realizar experimentos futuros que desenvolvam e implementem metodologias mais apropriadas para quantificar de forma eficiente o biofilme flutuante produzido por essas culturas.

Conclusões

Os resultados obtidos neste estudo destacam a variabilidade e elevada capacidade de formação de biofilme entre diferentes espécies de *Moraxella* associadas à CIB. *M. bovoculi*, *M. oculi* e *Moraxella* spp. demonstraram forte capacidade de produção de biofilmes, enquanto os isolados de *M. bovis* exibiram capacidade moderada. Estas descobertas sublinham a necessidade de investigações adicionais para compreender melhor os fatores

que influenciam a virulência e a cronicidade das infecções causadas por essas bactérias, possibilitando o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes e direcionadas.

Agradecimentos

Ao apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Brasil pela bolsa PIBIC e financiamento do projeto (403830/2023-0). À Fapemig pelo apoio financeiro (APQ-00957-23).

Referências

- BRANDA, S. S.; VIK, S.; FRIEDMAN, L.; KOLTER, R. Biofilms: the matrix revisited. **Trends in Microbiology**, v. 13, n. 1, p. 20-26, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2004.11.006>.
- DENNIS, E. J.; KNEIPP, M. A review of global prevalence and economic impacts of infectious bovine keratoconjunctivitis. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 37, n. 2, p. 355-369, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2021.03.010>.
- ELY, V. L.; VARGAS, A. C.; COSTA, M. M.; OLIVEIRA, H. P.; PÖTTER, L.; REGHELIN, M. A.; FERNANDES, A. W.; PEREIRA, D. I. B.; SANGIONI, L. A.; BOTTON, S. A. Moraxella bovis, Moraxella ovis and Moraxella bovoculi: biofilm formation and lysozyme activity. **Journal of Applied Microbiology**, v. 126, n. 2, p. 369-376, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/jam.14086>.
- KNEIPP, M. Defining and diagnosing infectious bovine keratoconjunctivitis. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 37, n. 2, p. 237-252, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2021.03.001>.
- LOY, J. D.; CLOTHIER, K. A.; MAIER, G. Component causes of infectious bovine keratoconjunctivitis: non-moraxella organisms in the epidemiology of infectious bovine keratoconjunctivitis. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 37, n. 2, p.295-308, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2021.03.005>.
- STEPANOVIĆ, S.; VUKOVIĆ, D.; HOLA, V.; BONAVENTURA, G. D.; DJUKIĆ, S.; ĆIRKOVIĆ, I.; RUZICKA, F. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. **APMIS Journal of Pathology, Microbiology and Immunology**, v. 115, n., 8, p. 891-899, 2007. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x.
- WILKES, P. R.; ANIS, E.; KATTOOR, J. J. Moraxella oculi sp. nov., isolated from a cow with infectious bovine keratoconjunctivitis. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 74, n. 2, 006281, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.006281>.

Identificação de novos miRNAs expressos em tetos extracorpóreos bovinos inoculados com *Streptococcus agalactiae*

Lidiane Loeffler Lima^{(1) (8)}, Sabrina Marques Oliveira de Paulo⁽²⁾, Leticia Milena de Jesus⁽³⁾, Raíssa Cury Ferreira⁽⁴⁾, Isabela Fonseca⁽⁵⁾, Robert Domingues⁽⁶⁾, Daniele Ribeiro de Lima Reis Faza⁽⁶⁾, Emanuelle Baldo Gaspar⁽⁷⁾ e Marta Fonseca Martins⁽⁷⁾

⁽¹⁾Estudante de graduação, Centro Universitário do Sudeste Mineiro, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Estudante de graduação, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾Estudante de graduação, Centro Universitário UniAcademia, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾Estudante de graduação, Universidade Presidente Antônio Carlos, Juiz de Fora, MG. ⁽⁵⁾Professora, Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais, Rio Pomba, MG. ⁽⁶⁾Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, ⁽⁷⁾Pesquisadora, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁸⁾E-mail: lidianeloefflerlima@gmail.com.

Resumo — A mastite é uma inflamação da glândula mamária que compromete a saúde dos mamíferos e reduz a qualidade do leite. A doença pode ser subclínica, sem sinais visíveis, ou clínica, apresentando sintomas como inflamação do úbere e presença de pus e sangue no leite. Dentre as principais causas da doença podemos citar a infecção por microrganismos patogênicos, como os Gram positivos *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*. Um caminho promissor para o controle da mastite é o melhoramento genético, e, assim, identificar genes relacionados com a resistência à doença é crucial para o desenvolvimento de melhores estratégias. Nesse contexto, os microRNAs desempenham um papel vital, regulando a expressão gênica e modulando a resposta imune. Assim, este estudo teve como objetivo investigar se existem miRNAs bovinos ainda não conhecidos e expressos durante a infecção bacteriana no teto. Para isso, úberes extracorpóreos de vacas foram inoculados com *S. agalactiae* e tecidos alveolares foram coletados para análise. A análise por bioinformática identificou 1.517 miRNAs, dos quais 679 eram conhecidos e 838 novos. Estes resultados fornecem uma base para futuras pesquisas sobre a regulação de genes e a resposta imune em bovinos, contribuindo para o desenvolvimento de estratégias mais eficazes no combate à mastite.

Termos para indexação: bioinformática; expressão gênica; resposta imune.

Identification of new miRNAs expressed in bovine extracorporeal teats inoculated with *Streptococcus agalactiae*

Abstract — Mastitis is an inflammation of the mammary gland that affects the health of mammals and reduces milk quality. The disease can be subclinical, without visible signs, or clinical, presenting symptoms such as udder inflammation and the presence of pus and blood in the milk. Among the main causes of the disease are infections by pathogenic microorganisms, such as the Gram-positive *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*. A promising approach for controlling mastitis is genetic improvement, and thus, identifying genes related to disease resistance is crucial for developing better strategies. In this context, microRNAs play a vital role, regulating gene expression and modulating the immune response. Therefore, this study aimed to investigate whether there are bovine miRNAs that are yet to be discovered and expressed during bacterial infection in the teat. For this purpose, extracorporeal udders of cows were inoculated with *S. agalactiae* and alveolar tissues were collected for analysis. Bioinformatics analysis identified 1,517 miRNAs, of which 679 were known and 838 were new. These results provide a basis for future research on gene regulation and immune response in cattle, contributing to the development of more effective strategies to combat mastitis.

Index terms: bioinformatics; gene expression; immune response.

Introdução

A mastite é uma inflamação da glândula mamária que compromete a saúde e bem-estar dos animais, além de reduzir a produção e qualidade do leite. Ela se classifica em mastite subclínica, sem sinais visíveis, e mastite clínica, caracterizada pela inflamação do teto, perda de apetite, febre, alterações comportamentais, redução na produção, bem como pela presença de pus e sangue no leite secretado (Chung et al., 2021). As causas da mastite em vacas incluem traumas mecânicos, exposição a compostos químicos e infecção por microrganismos ambientais e/ou patogênicos. Em relação aos micro-organismos patogênicos associados à mastite, destacam-se as bactérias Gram-positivas como *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, que podem ser transmitidos de forma contagiosa de uma vaca para outra durante o processo de ordenha (Ruegg, 2017).

A abordagem predominante para tratar e prevenir a mastite é por meio da antibioticoterapia, seja durante a lactação ou no período seco (Krömker; Leimbach, 2017). No entanto, o uso constante de antibióticos na pecuária tem levantado preocupações significativas devido à seleção de micro-organismos resistentes, que podem ser transferidos para humanos e/ou disseminados pelo solo, alimentos e águas subterrâneas (Lhermie et al., 2017). Por essa razão, há uma demanda crescente por pesquisas focadas na identificação e seleção de variações de genes que promovam a resistência à mastite, visando selecionar bovinos geneticamente mais resistentes a essa doença e também em formas alternativas de controle (Sahana et al., 2014; Li et al., 2018).

Alguns estudos indicam que os microRNAs (miRNAs), pequenos RNAs não codificantes, desempenham um papel crucial na regulação gênica e na resposta imune, especialmente nas primeiras horas após infecções experimentais de vacas por *S. agalactiae* (Fonseca et al., 2015; Pereira et al., 2021). Assim, este estudo teve como objetivo investigar se existem miRNAs bovinos ainda não conhecidos e expressos em vacas após infecção com *S. agalactiae* em úberes extracorpóreos.

O conteúdo desse documento 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 1 – “Erradicação da pobreza: Acabar com a pobreza em todas as suas formas, em todos os lugares”; ODS 3 – “Saúde de qualidade: Assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todos, em todas as idades”; ODS 12 - “Assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis”.

Material e métodos

Úberes de quatro vacas destinadas para abate foram mantidos em um sistema extracorpóreo (Pinto et al., 2017). Os tetos esquerdos foram inoculados com *Streptococcus agalactiae*, enquanto os tetos direitos serviram como controle não inoculado. Biópsias dos tecidos alveolares foram coletadas nos tempos 0 horas e 3 horas após a infecção, preservadas em RNAlater® e o RNA total enriquecido com miRNA foi extraído utilizando o kit MiRNeasy Tissue/Cells Advanced (Qiagen, Alemanha). As amostras de RNA foram sequenciadas usando a tecnologia NGS Illumina®. A qualidade do sequenciamento foi avaliada pelo Q-Score, onde um valor alto indica menor probabilidade de erro e maior precisão. Após isso, um controle de qualidade dos *reads* foi realizado, excluindo aqueles com menos de 18 pb, mais de 30 pb, com mais de 10% de bases não reconhecidas (N), ou com Q-Score menor que 30. Os *reads* foram alinhados utilizando o software Bowtie contra os bancos de dados Silva, GtRNADB, Rfam e Rfam para quantificar os tipos de RNAs

presentes (rRNA, scRNA, snRNA, snoRNA, tRNA e sequências repetitivas). Em seguida, os reads foram mapeados no genoma de referência *Bos taurus* GCF_002263795.3_ARS_UCD 2.0 e comparados com miRNAs maduros no banco de dados miRBase (v.22), considerando apenas leituras com no máximo uma incompatibilidade. Utilizando mirDeep2, as leituras foram analisadas para prever novos miRNAs baseados no genoma de referência *Bos taurus* GCF_002263795.3_ARS_UCD 2.0.

Resultados e discussão

A análise por bioinformática dos dados gerou 215.958.297 sequências limpas, ou seja, sequências de alta qualidade filtradas para remover contaminantes. A partir dessas sequências, foram identificados 1.517 miRNAs, dos quais 679 eram conhecidos e 838 não tinham sido descritos anteriormente. Isso indica que há um número maior de miRNAs desconhecidos do que de miRNAs conhecidos. Além disso, a identificação de tantos miRNAs novos destaca a complexidade da resposta imunológica mediada por miRNAs em bovinos após infecção por *S. agalactiae*. Dessa forma, os novos miRNAs encontrados neste estudo podem ser alvos promissores para biomarcadores de diagnóstico precoce da mastite, embora suas funções ainda precisam ser elucidadas. Para isso, ferramentas como o TargetScan, que preveem quais mRNAs podem ser regulados por miRNAs desconhecidos com base na complementaridade de sequências, podem ser valiosas para identificar essas funções. Assim, a análise funcional desses miRNAs pode revelar novas vias regulatórias e mecanismos moleculares importantes em resposta à infecção por *S. agalactiae* em bovinos.

Conclusões

Foram identificados 1517 miRNAs em tetos extracorpóreos de vacas infectados com *S. agalactiae* após 3 h, dos quais 838 não haviam sido descritos anteriormente.

Agradecimentos

À Fapemig (Processo APQ-02750-23), ao CNPq, e ao INCT-CA/Brasil pelo suporte financeiro.

Referências

- CHUNG, L. K.; SAHIBZADA, S.; ANNANDALE, H. C.; ROBERTSON, I. D.; WAICHIGO, F. W.; TUFAIL, M. S.; ALERI, J. A. Bacterial pathogens associated with clinical and subclinical mastitis in a Mediterranean pasture-based dairy production system of Australia. **Research in Veterinary Science**, v.141, p.103-109, 2021. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.10.005>.
- FONSECA, I.; CARDOSO, F. F.; HIGA, R. H.; GIACHETTO, P. F.; BRANDÃO, H. D. M.; BRITO, M. A. V. P.; FERREIRA, M. D. B.; GUIMARÃES, S. E. F.; MARTINS, M. F. Gene expression profile in zebu dairy cows (*Bos taurus indicus*) with mastitis caused by *Streptococcus agalactiae*. **Livestock Science**, v.180, p. 47-57, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.07.012>.
- KRÖMKER, V.; LEIMBACH, S. Mastitis treatment: reduction in antibiotic usage in dairy cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 52, n. S3, p. 21-29, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/rda.13032>.
- LHERMIE, G.; GRÖHN, Y. T.; RABOISSON, D. Addressing antimicrobial resistance: an overview of priority actions to prevent suboptimal antimicrobial use in food-animal production. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 2114, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389%2Ffmicb.2016.02114>.
- LI, Z.; HU, Y.; YANG, Y.; LU, Z.; WANG, Y. Antimicrobial resistance in livestock: antimicrobial peptides provide a new solution for a growing challenge. **Animal Frontiers**, v. 8, n. 2, p. 21-29, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1093/af/vfy005>.

PEREIRA, H. P.; VERARDO, L. L.; WELLER, M. M. D. C. A.; SBARDELLA, A. P.; MUNARI, D. P.; DAIBERT, R. M. de P.; CARVALHO, W. A.; MACHADO, M. A.; MARTINS, M. F. Going further post-RNA-seq: in silico functional analyses revealing candidate genes and regulatory elements related to mastitis in dairy cattle. **Journal of Dairy Research**, v. 88, n. 3, p. 286-292, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0022029921000571>.

PINTO, I. S. B.; FONSECA, I.; BRANDÃO, H. M.; GERN, J. C.; GUIMARÃES, A. S.; CARVALHO, W. A.; BRITO, M. A. V. P.; VICCINI, L. F.; MARTINS, M. F. Evaluation of perfused bovine udder for gene expression studies in dairy cows. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 1, gmr16019637, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.4238/gmr16019637>.

RUEGG, P. L. A 100-year review: mastitis detection, management, and prevention. **Journal of Dairy Science**, v.100, n. 12, p. 10381-10397, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13023>.

SAHANA, G.; GULDBRANDTSEN, B.; THOMSEN, B.; HOLM, L. E.; PANITZ, F.; BRØNDUM, R. F.; BENDIXEN, C.; LUND, M. S. Genome-wide association study using high-density single nucleotide polymorphism arrays and whole-genome sequences for clinical mastitis traits in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 11, p. 7258-7275, 2014. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8141>.

Avaliação de clones de capim-elefante indicados para pastejo e silagem, quanto à resistência a *Maharva spectabilis* (Hemiptera:Cercopidae) por meio dos mecanismos de antibiose e tolerância

Luis Augusto Calsavara⁽¹⁾⁽⁴⁾, Bruno Antônio Veríssimo⁽²⁾, Michelle Oliveira Campagnani Mendonça⁽¹⁾, Francisco José da Silva Ledo⁽³⁾ e Alexander Machado Auad⁽³⁾

⁽¹⁾Estudante de graduação, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais, Barbacena, MG. ⁽²⁾Estudante de pós-graduação, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾E-mail: agrocalsavara@gmail.com.

Resumo — O objetivo deste estudo foi avaliar a resistência de genótipos de *Cenchrus purpureus* a *Mahanarva spectabilis* por meio da antibiose e tolerância. Foram testados 10 genótipos de capim-elefante provenientes do programa de melhoramento da Embrapa Gado de Leite. Para antibiose avaliou-se a porcentagem de sobrevivência ninfal de *M. spectabilis* com 20 repetições por genótipos. Para estudo de tolerância, aqueles que proporcionaram menores sobrevivência ninfal, no ensaio anterior, foram submetidos às densidades de 0, 5, 10, 15 e 20 ninfas ou adultos do inseto-praga. Em seguida avaliou-se a porcentagem de perda de clorofila, nota de dano, capacidade de rebrota, perda funcional e proteína bruta. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). Constatou-se que todos os genótipos foram suscetíveis ao ataque de *M. spectabilis*, tanto pelos mecanismos de antibiose quanto ao de tolerância.

Termos para indexação: antibiose, tolerância, cigarrinha-das-pastagens, forrageira.

Evaluation of elephant grass clones for grazing and silage, regarding resistance to *Maharva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae) through antibiosis and tolerance mechanisms

Abstract — The aim of this study was to evaluate the resistance of *Cenchrus purpureus* genotypes to *Mahanarva spectabilis* through antibiosis and tolerance. Ten elephant grass genotypes from Embrapa Dairy Cattle's breeding program were tested. For antibiosis, the nymphal survival (%) of *M. spectabilis* was evaluated with 20 repetitions per genotype. For the tolerance study, those genotypes that provided lower nymphal survival in the previous assay were subjected to densities of 0, 5, 10, 15, and 20 nymphs or adults of the pest. The percentage of chlorophyll loss, damage score, regrowth capacity, functional loss and crude protein were then assessed. The data were subjected to analysis of variance (ANOVA) and means were compared using the Scott-Knott test ($P < 0.05$). All genotypes were found to be susceptible to the attack by *M. spectabilis*, both by antibiosis and by tolerance mechanisms.

Index terms: antibiosis, tolerance, spittlebug, forage.

Introdução

A cigarrinha-das-pastagens, *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera:Cercopidae) é capaz de reduzir a produção e a qualidade do *Cenchrus purpureus* (Schumach.) Morrone (Auad et al., 2018; Visconde et al., 2020). Pesquisas sobre a resistência dessa gramínea à cigarrinha são cruciais para manejar corretamente essa praga, recomendando cultivares produtivas e resistentes. Um genótipo ideal deve conter substâncias que prejudiquem as ninfas (antibiose) e tolerar os danos causados pelos adultos provenientes das ninfas não

afetadas pela antibiose (Gusmão et al., 2013). Dessa forma, a presente pesquisa visa avaliar genótipos de capim-elefante quanto ao seu potencial de antibiose às ninfas e tolerância ao ataque de adultos e ninfas de *M. spectabilis*.

O conteúdo desse documento 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 1 – “Erradicação da pobreza: Acabar com a pobreza em todas as suas formas, em todos os lugares”; 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

Os insetos e os genótipos foram coletados no campo experimental da Embrapa Gado de Leite, e levados ao Laboratório de Entomologia. Avaliou-se dez genótipos de *C. purpureus* provenientes do programa de melhoramento genético de capim-elefante indicados para pastejo e/ou silagem. Cultivados em vasos de 1L, com substrato de 1:1 (Terra e Esterco) e mantidos em casa de vegetação, os genótipos foram submetidos a testes de antibiose com ovos no estágio S4 (próximos a eclosão). Adotou-se o delineamento em blocos casualizados com 20 repetições e revelou a porcentagem de ninfas sobreviventes após 30 dias. No segundo ensaio, envolveu dois genótipos e quatro densidades (0, 5, 10, 15 e 20) de adultos ou ninfas de cigarrinha-das-pastagens. Na sequência, avaliou-se a resposta da planta quanto, nota de dano, perda de clorofila, rebrota, índice de perda funcional e proteína bruta após 10 dias. Os dados foram analisados por ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

Resultados e discussão

A sobrevivência média ninfal de *M. spectabilis* variou entre 43% e 77% nos genótipos avaliados. Os genótipos CNPGL2215, CNPGL2119, CNPGL2232, CNPGL2205 e a testemunha Pioneiro apresentaram as menores médias de sobrevivência ninfal ($F = 4,978$; $P = 0,0000$) (Figura 1 A). A alta taxa de sobrevivência de ninfas em *C. purpureus* também foi relatada por Auad et al. (2007) e Alvarenga et al. (2019), classificando essa forrageira como suscetível a *M. spectabilis*. Segundo o critério de Cardona et al. (1999), que considera resistentes apenas os genótipos com sobrevivência abaixo de 30%, todos os materiais testados foram classificados como suscetíveis por antibiose. Miles et al. (2006) e Souza Sobrinho et al. (2010) demonstraram que, por meio de seleções recorrentes, foi possível selecionar alelos favoráveis em *Urochloa* sp., permitindo a criação de materiais genéticos promissores e resistentes às cigarrinhas-das-pastagens. A seleção recorrente pode ser indicada utilizando os genótipos acima indicados, que proporcionaram sobrevivência ninfal abaixo de 55%.

As plantas expostas as ninfas apresentaram maior nota de dano com o incremento da densidade de ninfas ($F = 21,36$; $P = 0,0000$) e adultos ($F = 21,75$; $P = 0,00$) (Figura 1 B). Entretanto, não houve diferença significativa na porcentagem de perda de clorofila ($F = 0,59$; $P = 0,65$; $F = 0,39$; $P = 0,35$) (Figura 1C) e no índice de perda funcional ($F = 0,69$; $P = 0,49$; $F = 1,11$; $P = 0,35$) (Figura 1D) entre a testemunha e as plantas infestadas nas diferentes densidades de ninfas e adultos, respectivamente. Após 15 ($F = 3,71$; $P = 0,012$) e 30 ($F = 2,6$; $P = 0,52$) (Figura 1E) dias da poda, as plantas submetidas ao ataque das

ninfas de *M. spectabilis* apresentaram um menor número de perfilhos em comparação à testemunha. No entanto, a rebrota do capim-elefante após 15 ($F= 1,3$; $P= 0,28$) e 30 ($F= 0,99$; $P= 0,42$) (Figura 1E) dias não apresentaram diferenças significativas entre as diferentes densidades de adultos.

Segundo Resende et al. (2013), plantas de *U. ruziziensis* submetidas a maiores densidades de *M. spectabilis* apresentaram maiores notas de dano, corroborando com os resultados deste trabalho, onde o aumento da densidade de ninfas em capim-elefante resultou em maiores notas de dano. Cardona et al. (1999) também observaram que quanto maior a densidade de ninfas da cigarrinha-das-pastagens em espécies de *Urochloa* sp., maior a nota de dano. Notas de dano entre 3,1 e 3,5 na escala de Cardona et al. (1999) são irreversíveis, indicando falta de resistência por tolerância.

Alvarenga et al. (2019) mostraram que capim-elefante, *Urochloa* sp. e *Cynodon* sp. submetidos a diferentes densidades de adultos sofreram maiores danos e redução de clorofila. Nosso estudo demonstrou que a perda de clorofila ocorre mesmo com a menor densidade de ninfas, e não foram observadas diferenças significativas com o incremento das densidades do inseto-praga, podendo resultar em perdas de clorofila de até mais de 20%.

Segundo López et al. (2009), o índice de perda funcional (IPF) é crucial para estimar a tolerância de plantas forrageiras ao ataque de cigarrinhas-das-pastagens. No presente trabalho, plantas submetidas a uma menor densidade de ninfas ou adultos, provocou perda funcional de aproximadamente 50%, reduzindo pela metade seu potencial produtivo.

Alvarenga et al. (2019) observaram que a rebrota das plantas forrageiras foi afetada devido ao ataque das ninfas da cigarrinha-das-pastagens, *M. spectabilis*, o que reforça os resultados obtidos neste estudo, onde foi demonstrado que a partir de 5 ninfas por planta, a rebrota é significativamente reduzida. Em contraste com os resultados mencionados anteriormente, nosso estudo não encontrou diferenças significativas entre as rebrotas aos 15 e 30 dias e as diferentes densidades de adultos da cigarrinha-das-pastagens em capim-elefante.

Estudos recentes indicam que quando as ninfas de cigarrinha-das-pastagens introduzem seus estiletes nos vasos do xilema e sugam a seiva da raiz, ocorre a destruição dos vasos condutores, afetando diretamente o transporte de água e nutrientes e resultando em desordens fisiológicas (Byers; Wells, 1966), que pode afetar diretamente a qualidade da forrageira. Os níveis de proteína bruta de plantas submetidas a diferentes densidades de adultos ($F= 0,67$; $P= 0,61$) e ninfas ($F= 1,06$; $P= 0,38$) (Figura 1F) de *M. spectabilis*, não apresentaram diferenças significativas, corroborando aos registros de Aguiar et al. (2014) para a mesma espécie praga em *U. ruziziensis*. Com presença ou ausência de ninfas e adultos de *M. spectabilis*, os níveis de proteína bruta foram acima de 15%, denotando não ter ocorrido perda de qualidade nutricional da forrageira; pois, segundo Van Soest et al. (1993), níveis de proteína bruta somente quando abaixo de 7% são considerados críticos nutricionalmente.

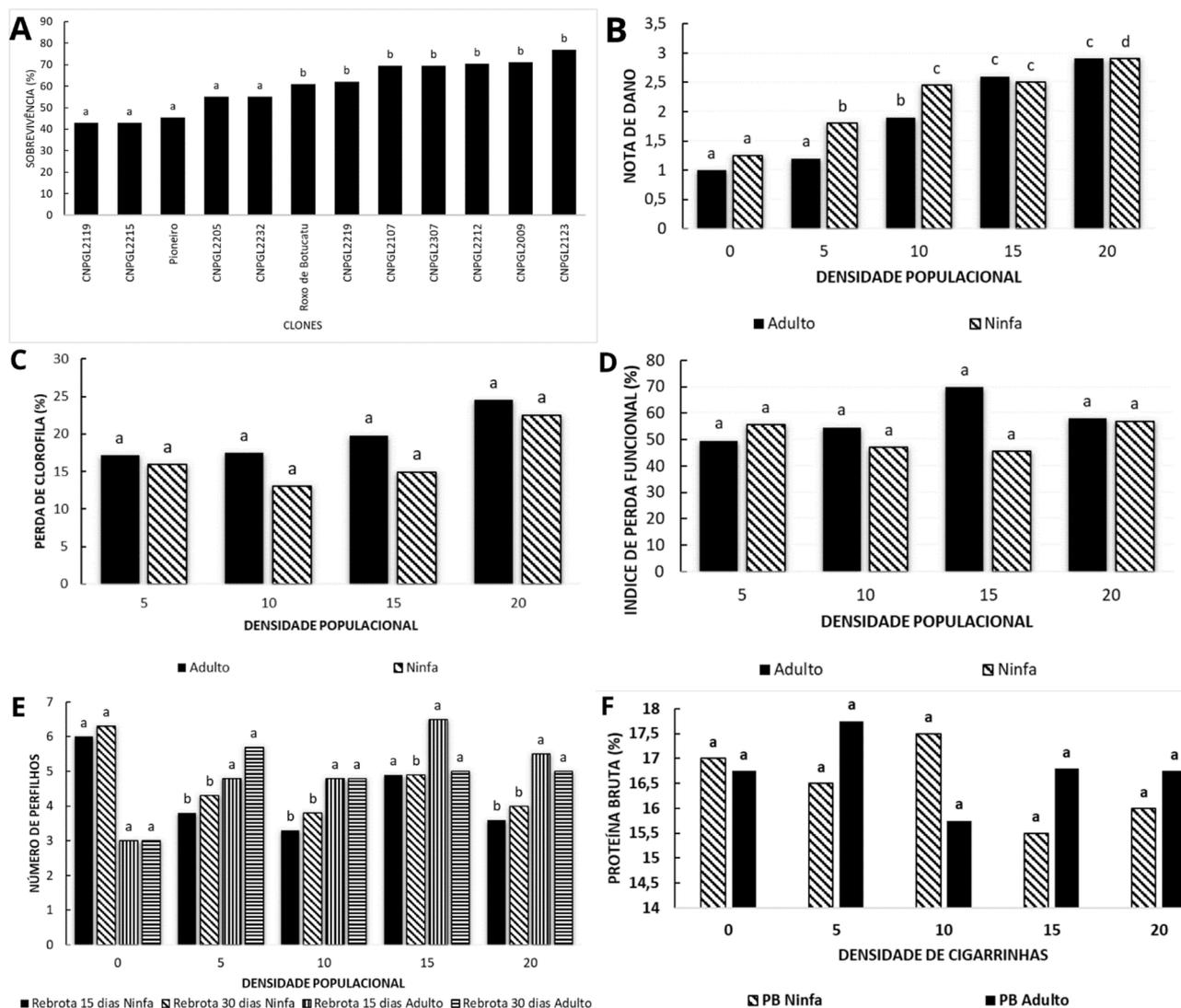


Figura 1. Sobrevivência média ninfal (%) de *M. spectabilis* (A), Nota de dano (B), Perda de Clorofila (%) (C), Perda Funcional (%) (D) rebrota aos 15 dias e 30 dias após o corte das plantas atacadas (E) e Proteína Bruta (%) (F), nos diferentes genótipos de capim elefante, com ou sem o ataque de ninfas e adultos de *M. spectabilis*.

Conclusões

Os genótipos de capim-elefante avaliados apresentam sobrevivência ninfal acima de 30%, com indicação de perdas na produção após ataque de ninfas e adultos, o que os caracterizam como suscetíveis ao ataque de ninfas e adultos de *M. spectabilis*.

Agradecimentos

Ao apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Brasil. À Embrapa Gado de Leite pela oportunidade da bolsa recebida do Programa Pibic.

Referências

AGUIAR, D. D. M.; AUAD, A. M.; FONSECA, M. D. G.; LEITE, M. V. Brachiaria ruziziensis responses to different fertilization doses and to the attack of Mahanarva spectabilis (Hemiptera: Cercopidae) nymphs and adults. **Scientific World Journal**, v. 2014, n. 1, p. 543813, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1155%2F2014%2F543813>.

- ALVARENGA, R.; AUAD, A. M.; MORAES, J. C.; SILVA, S. E. B. Do silicon and nitric oxide induce resistance to *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae) in forage grasses? **Pest Management Science**, v. 75, n. 12, p. 3292-3292, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.5450>.
- AUAD, A. M.; SIMÕES, A. D.; PEREIRA, A. V.; BRAGA, A. L. F.; SOUZA SOBRINHO, F. de; LÉDO, F. J. da S.; PAULA-MORAES, S. V.; OLIVEIRA, S. A.; FERREIRA, R. B. Seleção de genótipos de capim-elefante quanto à resistência à cigarrinha-das-pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 8, p. 1077-1081, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2007000800003>.
- BYERS, R. A.; WELLS, H. D. Phytotoxemia of Coastal bermudagrass caused by the two-lined spittlebug, *Prosapia bicincta* (Homoptera: Cercopidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 59, n. 6, p. 1067-1071, 1966. DOI: <https://doi.org/10.1093/aesa/59.6.1067>.
- 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 Economic Entomology**, v. 92, n. 2, p. 490-496, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1093/jee/92.2.490>.
- GUSMÃO, R. G.; VALÉRIO, J. R.; AUAD, A.M. Ideótipo de gramíneas resistentes às cigarrinhas das pastagens (Hemiptera: Cercopidae). In: SOUZA, F. H. D.; MATTA, F. P.; FÁVERO, A. P. (ed.) **Construção de ideótipos de gramíneas para usos diversos**. Brasília, DF: Embrapa, 2013. p.151-173.
- LÓPEZ, F.; CARDONA, C.; MILES, J. W.; SOTELO, G.; MONTROYA, J. Screening for resistance to adult spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae) in *Brachiaria* spp.: methods and categories of resistance. **Journal Economic Entomology**, v. 102, n. 3, p. 1309-1316, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1603/029.102.0358>.
- MILES, J. W.; CARDONA, C.; SOTELO, G. Recurrent selection in a synthetic *brachiaria* grass population improves resistance to three spittlebug species. **Crop Science**, v. 46, n. 3, p. 1088-1093, 2006. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci2005.06-0101>.
- RESENDE, T. T.; AUAD, A. M.; FONSECA, M. D. G.; SOUZA SOBRINHO, F.; SANTOS, D. R. dos; SILVA, S. E. B. da. The damage capacity of *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909)(Hemiptera: Cercopidae) adults on *Brachiaria ruziziensis* pasture. **The Scientific World Journal**, v. 2013, n. 1, p. 281295, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/281295>.
- SOUZA SOBRINHO, F. de; AUAD, A. M.; LÉDO, F. J. da S. Genetic variability in *Brachiaria ruziziensis* for resistance to spittlebugs. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.10, n. 1, p. 83-88, 2010.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca: Cornell University, 1994. 476 p.
- VISCONDE, A. J. M.; AUAD, A. M.; RESENDE, T. T.; NASCIMENTO, V. F.; MACHADO, J. C. Seleção de genótipos de capim-elefante com potencial energético e diferentes teores de lignina para antibiose à cigarrinha-das-pastagens. In: WORKSHOP DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA GADO DE LEITE, 25., 2020, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2020.

Efeitos da adição de precursor e de produto da enzima SCD1 durante a maturação in vitro de oócitos bovinos no desenvolvimento pré-implantacional

Alexandre Marcos de Melo⁽¹⁾⁽⁵⁾, Carolina Capobianco Romano Quintão⁽²⁾, Clara Slade Oliveira⁽²⁾, Luiza Bastos Guimaraães⁽³⁾ e Naiara Zoccal Saraiva⁽⁴⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/CNPq.), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, ⁽³⁾Estudante de graduação, Centro Universitário Uniacademia, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾Pesquisadora, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁵⁾E-mail: alexandremelo.cb@gmail.com.

Resumo — A estearoil-CoA dessaturase-1 (SCD1) é crucial no metabolismo lipídico, sintetizando ácidos graxos monoinsaturados a partir de ácidos graxos saturados. Recentemente, sua influência na competência oocitária e no desenvolvimento embrionário bovino foi destacada. Este estudo investigou a modulação da enzima SCD1 na maturação in vitro (MIV) de oócitos bovinos, focando na síntese de ácido oleico (18:1n-9). Oócitos de ovários de abatedouro foram submetidos à MIV com ácido esteárico e ácido oleico em diferentes concentrações, fecundados e cultivados in vitro a 38,5 °C e 5% de CO₂ por 7 dias. Os resultados indicaram que a adição de ácido esteárico, precursor da SCD1, nas concentrações 25 µM ou 50 µM, não prejudicou o desenvolvimento embrionário, enquanto a adição de ácido oleico, produto de ação da enzima, mostrou um efeito positivo, especialmente em concentrações mais altas (200 µM). Esses achados sugerem que a enzima SCD1, principalmente por meio de seu produto, que neste estudo foi o ácido oleico, pode contribuir para o desenvolvimento embrionário, sinalizando para a importância dessa via metabólica em bovinos.

Termos para indexação: ácido oleico, ácido esteárico, competência oocitária, desenvolvimento embrionário, estearoil-CoA dessaturase-1.

Effects of adding SCD1 enzyme precursor and product during in vitro maturation of bovine oocytes on pre-implantation development

Abstract — Stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD1) is crucial in lipid metabolism, synthesizing monounsaturated fatty acids from saturated fatty acids. Recently, its influence on oocyte competence and bovine embryonic development has been highlighted. This study investigated the modulation of the SCD1 enzyme during the in vitro maturation (IVM) of bovine oocytes, focusing on the synthesis of oleic acid (18:1n-9). Oocytes from slaughterhouse ovaries were subjected to IVM with stearic acid and oleic acid at different concentrations, fertilized, and cultured in vitro at 38.5 °C and 5% CO₂ for 7 days. The results indicated that the addition of stearic acid, an SCD1 precursor, at concentrations of 25 or 50 µM did not impair embryonic development, while the addition of oleic acid, the enzyme's product, showed a positive effect, especially at higher concentrations (200 µM). These findings suggest that the SCD1 enzyme, primarily through its product oleic acid, may contribute to embryonic development, highlighting the importance of this metabolic pathway in cattle.

Index terms: oleic acid, stearic acid, oocyte competence, embryo development, stearoyl-CoA desaturase-1.

Introdução

A estearoil-CoA dessaturase-1 (SCD1) é uma enzima crucial no metabolismo lipídico, sendo responsável pela síntese de ácidos graxos monoinsaturados a partir de ácidos graxos saturados. Sua função é essencial na regulação do metabolismo energético, homeostase da glicose, resistência à insulina, adiposidade e esteatose hepática. Recentemente, estudos têm demonstrado a importância da SCD1 na competência oocitária e no desenvolvimento embrionário em bovinos (Aardema et al., 2017). A SCD1 catalisa a introdução de uma dupla ligação cis- Δ^9 entre os carbonos 9 e 10 dos ácidos graxos saturados, convertendo-os em ácidos graxos monoinsaturados, como ácido oleico (18:1n-9, a partir de ácido esteárico (18:0) (Flowers; Ntambi, 2008). Inclusive, estudos sugerem que a inibição seletiva da SCD1 pode ser uma estratégia promissora no tratamento de doenças metabólicas, uma vez que a inibição dessa enzima pode aumentar a sensibilidade à insulina e reduzir o armazenamento de gordura (Matsuzaka et al., 2007).

Em relação à reprodução, a SCD1 tem se mostrado importante para a competência dos oócitos e o desenvolvimento embrionário em diferentes espécies. A supressão da atividade da SCD1, em camundongos, resultou na interrupção do desenvolvimento embrionário e redução na formação de blastocistos (Niu et al., 2023). Em humanos, a diminuição da expressão da SCD1 levou à redução da viabilidade e aumento de apoptose nas células do cumulus, células estas que protegem o oócito contra os efeitos prejudiciais da lipotoxicidade (Fayez et al., 2018). Essas descobertas ressaltam a importância da SCD1 na reprodução, justificando a necessidade de estudos para entender melhor seu papel na competência oocitária e para o desenvolvimento do embrião.

Este estudo objetivou desenvolver estratégias de maturação *in vitro* (MIV) para aumentar a biodisponibilidade de ácidos graxos insaturados em oócitos e embriões bovinos, visando entender melhor a atividade da SCD1 no desenvolvimento embrionário inicial dessa espécie.

As informações contidas nesse documento contribuem para o alcance do Objetivo de Desenvolvimento Sustentável (ODS) de números 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

Para a realização dos experimentos, foram utilizados oócitos bovinos provenientes de ovários de animais abatidos. Folículos ovarianos com diâmetro entre 2 mm e 7 mm foram aspirados. O sedimento do fluido aspirado foi transferido para uma placa de Petri visando a seleção dos oócitos. Os oócitos foram então lavados em meio TCM-199 tamponado com bicarbonato de sódio e Hepes.

Os oócitos selecionados foram submetidos à MIV, utilizando meio base composto de TCM 199 tamponado com bicarbonato de sódio, suplementado com FSH, hCG, estradiol, piruvato sódico, amicacina e 8 mg/mL de BSA (livre de SFB). Para padronização das condições de MIV com substrato (ácido esteárico) e produto (ácido oleico) da enzima SCD1, foram estabelecidos os seguintes grupos: A – controle BSA 8 mg/mL; B – controle etanol (veículo de diluição das drogas); C – 25 μ M de ácido esteárico (AE); D – 50 μ M AE; E – 100 μ M de ácido oleico (AO); F – 200 μ M AO; G – meio controle laboratorial 10% SFB. Os oócitos foram cultivados em grupos de até 50 estruturas em 400 μ L de meio MIV, em placas de quatro poços, sem adição de óleo mineral, em estufa a 38,5 °C e atmosfera de 5% de CO₂ em ar por 24 horas.

Após a MIV por 24 horas, os oócitos de todos os grupos foram fecundados in vitro em meio TALP-FIV, suplementado com BSA, heparina, penicilamina, hipotaurina e epinefrina, por um período de até 24 horas. Em seguida, os prováveis zigotos foram lavados várias vezes, e o cultivo de desenvolvimento foi realizado em meio SOF modificado, suplementado com 1,5% de SFB e 6 mg/mL de BSA livre de ácidos graxos. Todas as estruturas foram mantidas em estufa a 38,5 °C e atmosfera de 5% de CO₂ em ar durante 7 dias, até atingirem o estágio de blastocisto (dia 0 = dia da fecundação). Foram cultivados entre 15 zigotos a 20 zigotos por microgota de 90 µL, em placas de poliestireno recobertas com óleo mineral. O meio de desenvolvimento foi parcialmente renovado no quarto dia de desenvolvimento embrionário. As taxas de clivagem e de produção de blastocistos foram verificadas após 48 horas e 7 dias da FIV. Análises estatísticas foram realizadas no GraphPad Prism 10, ao nível de significância de 5%, com proporções avaliadas pelo teste Qui-quadrado (χ^2).

Resultados e discussão

De acordo com a tabela 1, observamos que o grupo controle BSA apresentou uma taxa de clivagem de 81,5% e produção de blastocistos de 32,6%. Já o grupo etanol mostrou taxas de 78,9% de clivagem e 46,3% de produção de blastocistos, mostrando que não houve efeito tóxico do diluidor dos ácidos graxos utilizado no experimento.

As duas concentrações de ácido esteárico, 25 µM e 50 µM, não alteraram significativamente as taxas de clivagem e produção de blastocistos quando comparadas aos controles ($p > 0,05$). Porém, a adição de ácido oleico em alta concentração (200 µM) aumentou significativamente a taxa de blastocistos, indicando que a presença de ácidos graxos monoinsaturados favorece o desenvolvimento embrionário (Tabela 1).

Tabela 1. Valores referentes às taxas de clivagem e produção de blastocistos (D7) após MIV por 24 h em meio base contendo 8 mg/mL de BSA e ácido esteárico (AE) nas concentrações 25 e 50µM ou ácido oleico (AO) nas concentrações 100 e 200µM. Controle etanol (veículo de diluição dos ácidos graxos).

Grupos	Embriões clivados n (%)	Blastocistos n (%)
Controle BSA	75/92 (81,5)	30/92 (32,6) ^{bc}
Controle etanol	75/95 (78,9)	44/95 (46,3) ^{ab}
25µM AE	83/110 (75,4)	35/108 (32,4) ^c
50µM AE	56/76 (73,7)	21/76 (27,6) ^c
100µM AO	67/89 (75,3)	37/89 (41,6) ^{abc}
200µM AO	68/82 (82,9)	42/82 (51,2) ^a

^{a,b,c} Valores com sobrescritos diferentes entre linhas dentro de uma mesma coluna diferem entre si ($p < 0,05$, Qui-quadrado). Os percentuais de clivados e de blastocistos foram calculados pelo número total de oócitos.

Estes resultados confirmam a importância da SCD1 no desenvolvimento embrionário na espécie bovina, conforme sinalizado em estudos anteriores (Aardema et al., 2017; Fayezi et al., 2018). A SCD1 pode, portanto, ser uma enzima crítica para a maturação oocitária e subsequente competência para o desenvolvimento embrionário em bovinos.

Conclusões

A adição de ácido oleico durante a maturação in vitro de oócitos bovinos mostrou-se eficaz em melhorar a produção de blastocistos. Esses resultados destacam o papel essencial da SCD1 no desenvolvimento pré-implantacional, sugerindo que a modulação de

sua atividade pode ser uma estratégia promissora para otimizar os sistemas de produção in vitro de embriões bovinos.

Agradecimentos

À Embrapa Gado de Leite e ao CNPq, pela oportunidade da bolsa recebida por meio do Programa PIBIC, o que me proporcionou experiência e aprendizado; à pesquisadora Naiara Zoccal Saraiva pelo acompanhamento, orientação e apoio durante o período de estudos e treinamento; e à Fapemig (APQ 02041-22) pelo financiamento do projeto.

Referências

- AARDEMA, H.; VAN TOL, H. T. A.; WUBBOLTS, R. W.; BROUWERS, J. F. H. M.; GADELLA, B. M.; ROELEN, B. A. J. Stearoyl-CoA desaturase activity in bovine cumulus cells protects the oocyte against saturated fatty acid stress. **Biology of Reproduction**, v. 96, n. 5, p. 982-992, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.116.146159>.
- FAYEZI, S.; GHAFFARI NOVIN, M.; DARABI, M.; NOROUZIAN, M.; NOURI, M.; FARZADI, L.; DARABI, M. Primary culture of human cumulus cells requires stearyl-coenzyme a desaturase 1 activity for steroidogenesis and enhancing oocyte in vitro maturation. **Reproductive Sciences**, v. 25, n. 6, p. 844-853, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1177/1933719117698578>.
- FLOWERS, M. T.; NTAMBI, J. M. Role of stearyl-coenzyme A desaturase in regulating lipid metabolism. **Current Opinion in Lipidology**, v. 19, n. 3, p. 248-256, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1097%2FMOL.0b013e3282f9b54d>.
- MATSUZAKA, T.; SHIMANO, H.; YAHAGI, N.; KATO, T.; ATSUMI, A.; YAMAMOTO, T.; INOUE, N.; ISHIKAWA, M.; OKADA, S.; ISHIGAKI, N.; IWASAKI, H.; IWASAKI, Y.; KARASAWA, T.; KUMADAKI, S.; MATSUI, T.; SEKIYA, M.; OHASHI, K.; HASTY, A. H.; NAKAGAWA, Y.; TAKAHASHI, A.; SUZUKI, H.; YATOH, S.; SONE, H.; TOYOSHIMA, H.; OSUGA, J.; YAMADA, N. Crucial role of a long-chain fatty acid elongase, Elovl6, in obesity-induced insulin resistance. **Nature Medicine**, v. 13, n. 10, p. 1193-202, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1038/nm1662>.
- NIU, H.; LEI, A.; TIAN, H.; YAO, W.; LIU, Y.; LI, C.; AN, X.; CHEN, X.; ZHANG, Z.; WU, J.; YANG, M.; HUANG, J.; CHENG, F.; ZHAO, J.; HUA, J.; LIU, S.; LUO, J. Scd1 deficiency in early embryos affects blastocyst ICM formation through RPs-Mdm2-p53 pathway. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, 1750, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24021750> .

A via de formação do ácido oleico é importante para a qualidade de embriões bovinos?

Alexandre Marcos de Melo⁽¹⁾⁽⁵⁾, Carolina Capobiango Romano Quintão⁽²⁾, Clara Slade Oliveira⁽²⁾, Wasim Al Shebli⁽³⁾, Luiz Sérgio de Almeida Camargo⁽⁴⁾ e Naiara Zoccal Saraiva⁽⁴⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/CNPq.), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, ⁽³⁾ Estudante de pós-graduação, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. ⁽⁴⁾Pesquisadores, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁵⁾E-mail: alexandremelo.cb@gmail.com.

Resumo — A produção in vitro de embriões (PIVE) é uma biotecnologia importante para a reprodução bovina e melhoramento genético dos animais. Este estudo investiga a influência do ácido oleico (AO) na qualidade dos embriões bovinos produzidos in vitro, avaliando-se a suplementação do meio de maturação com diferentes concentrações de precursores (ácido esteárico a 25 μM e 50 μM) e produtos (AO a 100 μM e 200 μM) da enzima estearoil-CoA dessaturase 1 (SCD1). Como parâmetros de qualidade embrionária, foram avaliados o número total de células, o conteúdo lipídico e o índice apoptótico dos embriões. Os resultados indicam que a suplementação com AO, especialmente em alta concentração (200 μM), melhora a qualidade embrionária, reduzindo o acúmulo lipídico e os índices apoptóticos. Esses resultados sugerem que a via metabólica da SCD1 é crucial para a qualidade embrionária, destacando a importância do AO sob o aspecto de qualidade do embrião bovino produzido in vitro.

Termos para indexação: ácido esteárico, ácido oleico, apoptose, embriões bovinos, estearoil-CoA dessaturase 1, maturação in vitro.

Is the oleic acid formation pathway important for the quality of bovine embryos?

Abstract — In vitro embryo production (IVEP) is a significant biotechnology for bovine reproduction and genetic improvement of animals. This study investigates the influence of oleic acid (OA) on the quality of bovine embryos produced in vitro, by evaluating the supplementation of the maturation medium with different concentrations of precursors (stearic acid at 25 μM and 50 μM) and products (OA at 100 μM and 200 μM) of the enzyme stearyl-CoA desaturase 1 (SCD1). Embryo quality parameters, including total cell number, lipid content, and apoptotic index, were assessed. The results indicate that OA supplementation, particularly at a high concentration (200 μM), improves embryo quality by reducing lipid accumulation and apoptotic indices. These findings suggest that the SCD1 metabolic pathway is crucial for embryo quality, highlighting the importance of OA in enhancing the quality of bovine embryos produced in vitro.

Index terms: apoptosis, bovine embryos, in vitro maturation, oleic acid, stearyl-CoA desaturase 1, stearic acid.

Introdução

A produção *in vitro* de embriões (PIVE) é uma técnica amplamente utilizada na reprodução bovina, com o objetivo de otimizar a eficiência reprodutiva e melhorar as características genéticas dos rebanhos. Um dos fatores cruciais para o sucesso da PIVE é a qualidade dos embriões, que pode ser influenciada por diversos componentes do meio de cultura, incluindo os ácidos graxos (AGs). O ácido oleico (AO), um ácido graxo monoinsaturado, tem ganhado destaque por seu papel na melhoria da qualidade embrionária. Estudos sugerem que o AO pode atuar na redução do acúmulo de lipídios e na diminuição da apoptose em embriões bovinos, influenciando positivamente o desenvolvimento embrionário (Sudano et al., 2011; Aardema et al., 2017).

A enzima esteroil-CoA desaturase 1 (*stearoyl-CoA desaturase 1* - SCD1) é responsável pela conversão de ácido esteárico (AE) em AO, e sua atividade é fundamental para a regulação do conteúdo lipídico celular. A expressão e a atividade da SCD1 têm sido associadas à competência oocitária e ao desenvolvimento embrionário (Aardema et al., 2011, 2017). Este estudo teve como objetivo investigar a influência do AO na qualidade dos embriões bovinos produzidos *in vitro*, a partir de diferentes concentrações de ácidos graxos no meio de MIV, tendo como avaliações indicativas de qualidade embrionária, a análise do número total de blastômeros, o conteúdo lipídico e o índice apoptótico dos embriões produzidos.

O conteúdo desse documento 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 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 oócitos provenientes de ovários de fêmeas bovinas abatidas. Folículos ovarianos com diâmetro entre 2 mm e 7 mm foram aspirados e os oócitos selecionados submetidos então à MIV. Para a MIV, foram estabelecidos os grupos: A – controle BSA 8 mg/mL; B – controle etanol (veículo de diluição das drogas); C – 25 µM de ácido esteárico (AE); D – 50 µM AE; E – 100 µM de ácido oleico (AO); F – 200 µM AO; G – meio controle com 10% SFB. Os oócitos foram cultivados em grupos de até 50 estruturas em 400 µL de meio MIV, em placas de quatro poços, sem adição de óleo mineral, em estufa a 38,5°C e atmosfera de 5% de CO₂ em ar por 24 horas.

Após a MIV por 24 horas, os oócitos foram fecundados *in vitro* por um período de até 24 horas e os prováveis zigotos foram cultivados em meio SOF modificado suplementado com 1,5% de SFB e 6 mg/mL de BSA. As estruturas foram mantidas em incubadora durante 7 dias, até atingirem o estágio de blastocisto (dia 0 = dia da fecundação). Os blastocistos produzidos foram fixados overnight em paraformaldeído a 4 °C. Os embriões de cada unidade experimental foram avaliados quanto ao número total de células (DAPI), conteúdo lipídico (Nile Red) e índice apoptótico (TUNEL), com o uso de 3 fluoróforos em colorações sequenciais, e fotografados individualmente com diferentes faixas de excitação e emissão de fluorescência.

Inicialmente, os blastocistos foram submetidos ao protocolo de coloração TUNEL, seguindo as recomendações do fabricante (DeadEnd Fluorometric TUNEL system, Promega). Os embriões foram permeabilizados com Triton X-100 a 0,2% por 5 min, lavados em PBS

e equilibrados em tampão por 5-10 min. O controle positivo foi tratado com Dnase e os embriões incubados em tampão contendo nucleotídeos e enzima rTdT por 1 h. Em seguida, foi realizada a coloração com Nile Red (estoque 1mg/mL em DMSO, solução final 1:100 em PBS suplementado com 1% SFB) por 1h30 min e os embriões foram então transferidos para uma solução de Hoechst 33342 por 30 min e montados em lâminas. As imagens dos embriões corados foram capturadas utilizando microscópio de fluorescência (EVOS M5000, Thermo Fisher Scientific, EUA). A análise quantitativa de apoptose e conteúdo lipídico foi realizada com o programa ImageJ. Os resultados referentes ao número total de células, apoptose e intensidade de fluorescência de lipídios neutros foram submetidos à análise de variância (ANOVA one-way) e as médias comparadas pelo teste de Tukey. Todas as análises foram realizadas no programa GraphPad Prism, versão 10, ao nível de significância de 5%.

Resultados e discussão

Utilizou-se neste estudo três avaliações indicativas de qualidade embrionária, a partir de protocolos já descritos na literatura, porém, adaptados por nosso grupo para coloração das mesmas estruturas. Em relação ao número de células totais (Figura 1), houve diferença significativa ($p < 0,05$) apenas entre o grupo SFB e os grupos AE 25 μM e AO 100 μM , com valores superiores do SFB quanto ao número de blastômeros. Ressalta-se que o grupo AO 200 μM não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) em relação ao grupo SFB.

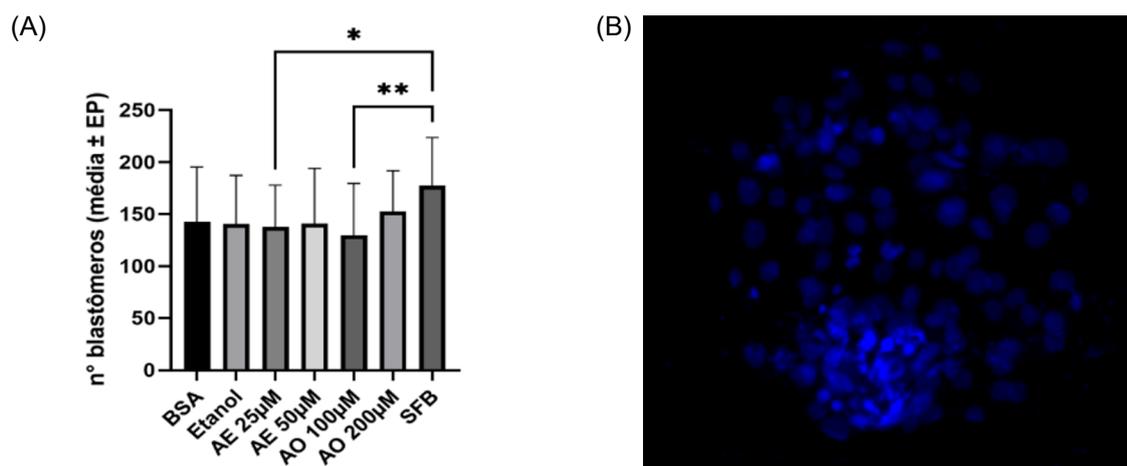


Figura 1. (A) Número total de células de blastocistos bovinos produzidos após maturação in vitro nos tratamentos com ácidos graxos esteárico (AE), nas concentrações de 25 μM e 50 μM , e oleico (AO), nas concentrações de 100 μM e 200 μM . BSA – grupo controle sem SFB; Etanol – diluidor dos AGs, SFB – controle com 10% SFB. Asteriscos (* e **) representam diferença estatística ($p < 0,05$). As barras do gráfico correspondem as médias e as barras de erro padrão de cada grupo experimental; (B) Blastocisto corado com Hoechst 33342 (Células totais; Aumento de 200x).

Na segunda avaliação (Figura 2), observou-se que o grupo controle BSA foi o que apresentou a maior quantidade de lipídios neutros, diferindo ($p < 0,05$) do grupo AE 25 μM e dos grupos suplementados com ácido oleico (AO 100 μM e AO 200 μM). Porém, não foram detectadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre o BSA e os grupos AE 50 μM e SFB.

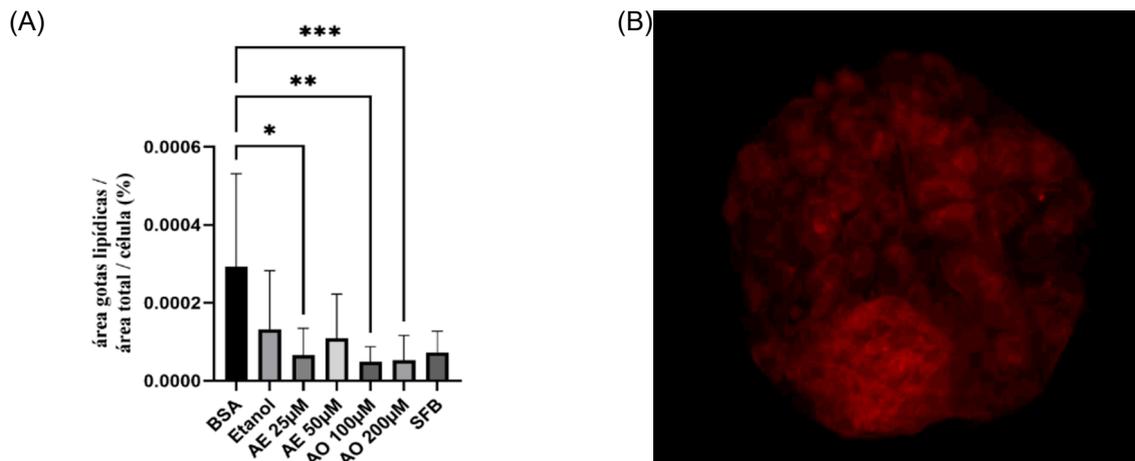


Figura 2. (A) Níveis de lipídios de blastocistos bovinos produzidos após maturação in vitro nos tratamentos com ácidos graxos esteárico (AE), nas concentrações de 25 µM e 50 µM, e oleico (AO), nas concentrações de 100 µM e 200 µM. BSA – grupo controle sem SFB; Etanol – diluidor dos AGs, SFB – controle com 10% SFB. Asteriscos (*, ** e ***) representam diferença estatística ($p < 0,05$). As barras do gráfico correspondem as médias e as barras de erro padrão de cada grupo experimental. (B) Blastocisto corado com Nile Red (lipídios neutros; Aumento de 200x).

Em relação à avaliação do índice apoptótico (Figura 3), o grupo BSA mostrou maiores valores ($p < 0,05$) em comparação aos grupos SFB, AE 50 µM e AO 200 µM. Ressalta-se que tanto os grupos expostos ao ácido esteárico quanto aqueles suplementados com ácido oleico, mostraram perfil semelhante ao do grupo SFB em relação a essa avaliação, sem diferenças significativas ($p > 0,05$).

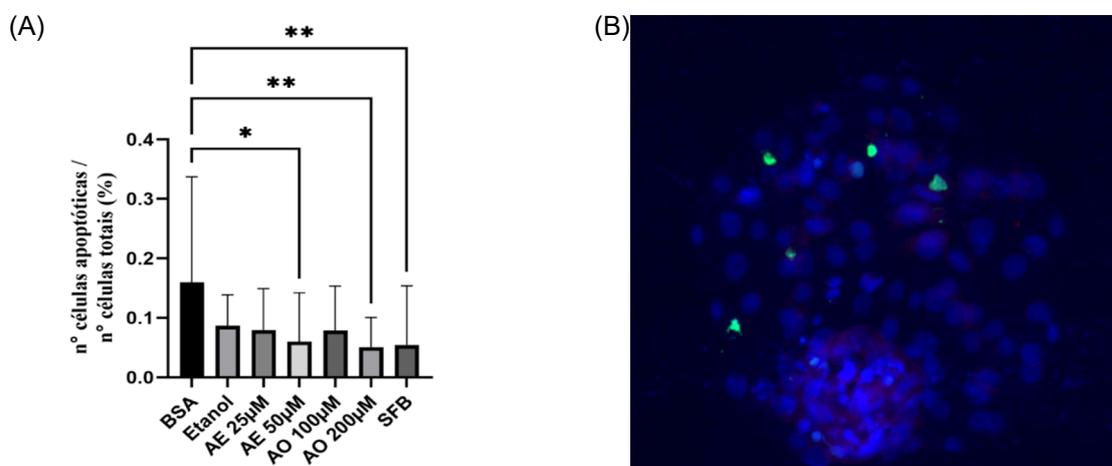


Figura 3. (A) Índice apoptótico (nº células apoptóticas/ nº células totais; %) de blastocistos produzidos após maturação in vitro nos tratamentos com ácidos graxos esteárico (AE), nas concentrações de 25 µM e 50 µM, e oleico (AO), nas concentrações de 100 µM e 200 µM. BSA – grupo controle sem SFB; Etanol – diluidor dos AGs, SFB – controle com 10% SFB. Asteriscos (* e **) representam diferença estatística ($p < 0,05$). As barras do gráfico correspondem as médias e as barras de erro padrão de cada grupo experimental. (B) Blastocisto corado com TUNEL e Hoechst 33342 (apoptose em verde e células totais em azul; Aumento de 200x).

Conclusões

A ausência do SFB durante a MIV afeta os índices apoptóticos do embrião obtido e a suplementação do meio BSA com ácido esteárico e ácido oleico, nas concentrações 50 µM e 200 µM, respectivamente, permitem que índices semelhantes àqueles apresentados pelo grupo SFB sejam obtidos. Esse fato sinaliza para uma contribuição positiva desses AGs, envolvidos na via de formação do ácido oleico, no processo de MIV e consequente impacto na qualidade embrionária.

Agradecimentos

Ao apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Brasil. À Embrapa Gado de Leite pela oportunidade da bolsa recebida do Programa Pibic.

Referências

AARDEMA, H.; VOS, P. L.; LOLICATO, F.; ROELEN, B. A.; KNIJN, H. M.; VAANDRAGER, A. B.; HELMES, J. B.; GADELLA, B. M. Oleic acid prevents detrimental effects of saturated fatty acids on bovine oocyte developmental competence. **Biology of Reproduction**, v. 85, n. 1, p. 62-69, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.088815>.

AARDEMA, H.; VAN TOL, H. T. A.; WUBBOLTS, R. W.; BROUWERS, J. F. H. M.; GADELLA, B. M.; ROELEN, B. A. J. Stearoyl-CoA desaturase activity in bovine cumulus cells protects the oocyte against saturated fatty acid stress. **Biology of Reproduction**, v. 96, n. 5, p. 982-992, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.116.146159>.

SUDANO, M. J.; PASCHOAL, D. M.; RASCADO, T. S.; MAGALHÃES, L. C.; CROCOMO, L. F.; LIMA-NETO, J. F. de; LANDIM-ALVARENGA, F. C. Lipid content and apoptosis of in vitro-produced bovine embryos as determinants of susceptibility to vitrification. **Theriogenology**, v. 75, n. 7, p. 1211-1220, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.11.033>.

Avaliação de mutações no gene receptor da prolactina em bovinos da raça Holandesa do Instituto Agrônomo de Pernambuco

Clarissa Vidal de Carvalho⁽¹⁾⁽⁷⁾, Ariany Lacerda Nogueira⁽²⁾, João Marcos Alves da Silva⁽³⁾, Robert Domingues⁽⁴⁾, Marco Antônio Machado⁽⁵⁾, Marta Fonseca Martins⁽⁵⁾, Sebastião Inocêncio Guido⁽⁶⁾, Marcos Vinícius Gualberto Silva⁽⁵⁾, Luiz Sergio de Almeida Camargo⁽⁵⁾ e Daniele Ribeiro de Lima Reis Faza⁽⁴⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/CNPq.), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Estudante de graduação, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾Estudante de graduação, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁵⁾Pesquisadores, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁶⁾Pesquisador, Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), Estação Experimental de São Bento do Una, PE. ⁽⁷⁾E-mail: clarissavidal4gmail.com.

Resumo – Os bovinos e sua produtividade são altamente influenciados pelas condições ambientais. Mutações no gene do receptor de prolactina, PRLR, foram associadas ao fenótipo conhecido como slick hair, caracterizado por animais com pelagem mais curta e menor densidade folicular em comparação a animais selvagens, levando a uma melhor termorregulação, e conseqüentemente, maior produtividade. O presente trabalho avaliou, através de genotipagem e sequenciamento, a presença de mutações no gene PRLR, em uma população de 71 animais da raça Holandesa do Instituto Agrônomo de Pernambuco, adaptados e com boa produtividade em clima tropical. Todos os animais apresentaram o alelo tipo selvagem CC. Uma nova mutação foi encontrada, troca de T para G em outro ponto, resultando na troca de aminoácidos de cisteína para glicina. Não foi encontrada nenhuma mutação que cause slick hair nesta população. A identificação de polimorfismos dentro de genes contribui para a descoberta de novas variações proteicas e podem ser aplicadas em pesquisas futuras.

Termos para indexação: PRLR, pelagem, produtividade, genotipagem, sequenciamento.

Evaluation of mutations in the prolactin receptor gene in Holstein cattle from the Agronomic Institute of Pernambuco

Abstract – Cattle and their productivity are highly influenced by environmental conditions. Mutations in the prolactin receptor gene, PRLR, have been associated with the phenotype known as slick hair, characterized by animals with shorter hair and lower follicular density compared to wild-type animals, leading to better thermoregulation and, consequently, greater productivity. This study evaluated, through genotyping and sequencing, the presence of mutations in the PRLR gene in a population of 71 Holstein cattle from the Agronomic Institute of Pernambuco, which are adapted and have good productivity in a tropical area. All animals presented the wild-type CC allele. A new mutation was found, a T to G substitution at another point, resulting in the amino acid change from cysteine to glycine. No mutations causing slick hair were found in this population. The identification of polymorphisms within genes contributes to the discovery of new protein variations and can be applied in future research.

Index terms: PRLR (Prolactin Receptor Gene), coat, productivity, genotyping, sequencing.

Introdução

A temperatura ambiental é um importante fator de pressão seletiva e já resultou em diversas adaptações nos mamíferos eutérios, como os bovinos, que regulam a temperatura corporal de maneira homeotérmica (Littlejohn et al., 2014). Adaptações relacionadas a temperaturas mais baixas como as apresentadas por *Bos taurus*, incluem camadas mais espessas de gordura subcutânea e pelagem maior e mais espessa. Em contrapartida, animais como *Bos indicus*, mais adaptados ao calor tendem a apresentar camadas de gordura mais finas e distribuídas de forma restrita em diferentes regiões do corpo, e uma pelagem menos espessa. (Porto Neto et al., 2018). Além de influenciar no bem estar animal, existem evidências que apontam uma forte interferência do estresse térmico por calor na produção leiteira (Dikmen et al., 2014; Huson et al., 2014) e reprodução de bovinos (Ortiz-Colón et al., 2018).

Uma mutação identificada inicialmente no gene do receptor de prolactina (PRLR) em bovinos da raça Senepol (Dikmen et al., 2014) foi associada a um fenótipo conhecido como *slick hair*, que caracteriza os animais com pelagem mais curta e menor densidade folicular em comparação aos animais do tipo selvagem. Este fenótipo torna a termorregulação mais eficiente pois facilita a dispersão e perda de calor da superfície da pele e assim tem relevância nos âmbitos econômico e produtivo. Estudos indicam que vacas produtoras de leite com o fenótipo *slick hair* são mais eficientes durante períodos de estresse térmico por calor em comparação a vacas que não apresentam este fenótipo (Dikmen et al., 2014; Huson et al., 2014).

O gene PRLR em sua forma selvagem codifica uma proteína de 581 aminoácidos. Determinadas mutações do tipo deleção e substituição de nucleotídeos já foram descritas em raças taurinas. A mutação p.R497 em que o nucleotídeo C é substituído por T na posição 39136666, gera um códon de parada e, conseqüentemente, uma menor isoforma desse receptor (Porto-Neto et al., 2018). Esta mutação pontual, foi encontrada nas raças Limonero e Carora, e também em raças taurinas brasileiras localmente adaptadas como Caracu, Pantaneiro, Mocho Nacional e Criolo Lageano (Faza et al., 2021). No entanto, nenhuma mutação no gene PRLR relacionada ao fenótipo *slick hair* foi identificada em animais da raça Holandesa, reconhecida pela alta produtividade leiteira e sensibilidade ao estresse térmico por calor. No Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), localizado na região Nordeste do Brasil, existe uma população de bovinos da raça Holandesa adaptados ao clima tropical. Estes animais mantêm bons índices de produtividade, mesmo com temperaturas desfavoráveis e pode-se notar que alguns deles apresentam pelos mais curtos e lisos. O objetivo do presente trabalho é realizar a genotipagem e o sequenciamento de animais da raça holandesa pertencentes ao rebanho do IPA, com o intuito de detectar possíveis mutações no gene PRLR, que possam influenciar na pelagem de animais da raça Holandesa associada ao fenótipo do *slick hair*.

O conteúdo desse documento 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 1 – “Erradicação da pobreza: Acabar com a pobreza em todas as suas formas, em todos os lugares”; 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

Foi realizada a extração do DNA de 71 amostras de pelo bovino através de um protocolo ajustado baseado nas técnicas descritas por Sambrook e Russel (2001). A genotipagem dos animais para o SNP do gene PRLR, na posição 39136666, foi realizada a partir da técnica tetra-primers ARMS-PCR (Li et al., 2014), conforme descrito por Faza et al. (2021). Após o processamento, as bandas foram submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida nativo a 8% e visualizadas por coloração com nitrato de prata.

O sequenciamento de 15 amostras foi realizado pela técnica de Sanger usando os *primers outers*, descritos por Faza et al. (2021) no equipamento SeqStudio usando as recomendações do kit Big Dye Terminator v 3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems USA). As sequências foram analisadas pelos programas DNA Baser Assembler versão 5.21.0 e Mega versão 11.0.13 (Tamura et al., 2021).

Resultados e discussão

Dos 71 animais genotipados pela técnica Tetra-primers ARMS-PCR, todos apresentaram o genótipo CC na posição 39136666, ou seja, não possuem a mutação que causa o fenótipo *slick hair*, encontrada em outras raças taurinas no Brasil. Este resultado foi esperado, uma vez que mutações neste local estão ausentes na raça Holandesa pura, apesar de estarem presentes em alguns poucos animais gerados por cruzamento absorvente com a raça Senepol nos Estados Unidos (Dikmen et al., 2014). Em relação aos 15 animais sequenciados, todos confirmaram o genótipo CC na posição 39136666, porém, numa posição de 36 pares *upstream*, na posição 39136630, foi observado que 3 dos 15 animais possuíam uma substituição de T para G em um dos alelos. Ou seja, 12 animais apresentaram o genótipo TT e 3 animais apresentaram o genótipo TG. A substituição analisada, gera uma troca de aminoácidos na posição 485 da proteína, de uma cisteína para uma glicina. Essa substituição não levou a um códon de parada como as outras que causam *slick hair* e não estava relacionada ao tamanho do pelo do animal. A identificação desse novo SNP contribui para uma compreensão mais abrangente da variação genética na região e tem valor significativo no avanço do nosso conhecimento dos mecanismos genéticos subjacentes implicados nessa característica.

Conclusões

O rebanho da raça Holandesa do IPA, embora apresente relatos de diferenças na pelagem, termotolerância e boa produtividade em clima tropical, não apresentou o alelo causador do fenótipo *slick hair* descrito em outras raças taurinas brasileiras localmente adaptadas. A única mutação relatada, em heterozigose e em poucos animais, causava apenas uma troca de aminoácidos no gene PRLR. Mais estudos são necessários para identificar a causa deste fenômeno. A identificação de polimorfismos dentro de genes contribui para a descoberta de novas variações proteicas e podem ser aplicadas em pesquisas futuras.

Agradecimentos

Ao apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Brasil e à Embrapa Gado de Leite pela oportunidade da bolsa recebida do Programa Pibic, o que nos proporcionou obter experiência e aprendizado; à analista Daniele Faza pela orientação.

Referências

- DIKMEN, S.; KHAN, F. A.; HUSON, H. J.; SONSTEGARD, T. S.; MOSS, J. I.; DAHL, G. E.; HANSEN, P. J. The SLICK hair locus derived from Senepol cattle confers thermotolerance to intensively managed lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 9, p. 5508-5520, 2014. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8087>.
- FAZA, D.; PEREIRA, H.; TORRES-JÚNIOR, A.; KIM, E.; SOSTENGARD, S.; MARTINS, M.; PANETTO, J.; SILVA, M.; MACHADO, M. Development of tetra-primer ARMS-PCR protocol to genotype the prolactin receptor SNP 39136666 and assessment of this SNP in Brazilian locally adapted cattle breeds. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 73, n. 2, p. 534-538, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-12104>.
- HUSON, H. J.; KIM, E.-S.; GODFREY, R. W.; OLSON, T. A.; MCCLURE, M.; CHASE, C. C.; RIZZI, R.; O'BRIEN, A.; TASSELL, C.; GARCIA, J.; SONSTERGARD, T. Genome-wide association study and ancestral origins of the slick hair coat in tropically adapted cattle. **Frontiers in Genetics**, v. 5, 101, 2014. DOI: <https://doi.org/10.3389%2Ffgene.2014.00101>.
- LI, M.; SUN, X.; JIANG, J.; SUN, Y.; LAN, X.; LEI, C.; ZHANG, C.; CHEN, H. Tetra-primer ARMS-PCR is an efficient SNP genotyping method: an example from SIRT2. **Analytical Methods**, v. 6, p. 1835-1840, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1039/C3AY41370E>.
- LITTLEJOHN, M. D.; HENTY, K. M.; TIPLADY, K.; JOHNSON, T.; HARLAND, C.; LOPDELL, T.; SHERLOCK, R.; LI, W.; LUKEFAHR, S.; SHANKS, B.; GARRICK, D.; SNELL, G.; SPELMAN, R.; DAVIS, S. Functionally reciprocal mutations of the prolactin signalling pathway define hairy and slick cattle. **Nature Communications**, v. 5, article 5861, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms6861>.
- ORTIZ-COLÓN, G.; FAIN, S. J.; PARÉS, I. K.; CURBELO-RODRÍGUEZ, J.; JIMÉNEZ-CABÁN, E.; PAGÁN-MORALES, M.; GOULD, W. A. Assessing climate vulnerabilities and adaptive strategies for resilient beef and dairy operations in the tropics. **Climatic Change**, v. 146, p. 47-58, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10584-017-2110-1>.
- PORTO-NETO, L. R.; BICKHART, D. M.; LANDAETA-HERNANDEZ, A. J.; UTSUNOMIYA, Y. T.; PAGAN, M.; JIMENEZ, E.; HANSEN, P. J.; DIKMEN, S.; SCHROEDER, S. G.; KIM, E.-S.; SUN, J.; CRESPO, E.; AMATI, N.; COLE, J. B.; NULL, D. J.; GARCIA, J. F.; REVERTER, A.; BARENDSE, W.; SONSTEGARD, T. S. Convergent evolution of slick coat in cattle through truncation mutations in the prolactin receptor. **Frontiers in Genetics**, v. 9, article 57, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00057>.
- SAMBROOK, J.; RUSSEL, D. W. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 3rd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
- TAMURA, K.; STECHER, G.; KUMAR, S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. **Molecular Biology and Evolution**, v. 38, n. 7, p. 3022-3027, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>.

Avaliação da presença de touros das raças Gir e Girolando portadores de Citrulinemia no Brasil

Ariany Lacerda Nogueira⁽¹⁾, Lidiane Loeffler Lima⁽²⁾, Letícia Milena de Jesus⁽³⁾, Daniele Ribeiro de Lima Reis Faza⁽⁴⁾, Robert Domingues⁽⁴⁾, João Cláudio do Carmo Panetto⁽⁵⁾, Marcos Vinicius Gualberto Barbosa da Silva⁽⁵⁾, Marta Fonseca Martins⁽⁵⁾ e Marco Antônio Machado⁽⁵⁾

⁽¹⁾Graduanda em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Bolsista (Pibic/CNPq.) E-mail: ariany.lacerda@icb.ufjf.br. ⁽²⁾Graduanda em Biomedicina, Centro Universitário do Sudeste Mineiro, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾Graduanda em Ciências Biológicas, Centro Universitário UniAcademia, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁵⁾Pesquisador(a), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG.

Resumo — A Citrulinemia bovina (BC) é uma doença autossômica recessiva hereditária que se fundamenta na substituição de uma citosina por uma timina no códon 86 do gene argininosuccinato sintetase bovino (ASS) localizado no cromossomo BTA11, e foi descrita primeiramente em animais da raça Holandesa na Austrália. Animais afetados por esta anomalia genética aparentam normais após o nascimento, porém a doença evolui rapidamente entre o terceiro e quinto dia, levando a perda de visão, convulsões, marcha instável e óbito. O cruzamento de raças zebuínas, como a raça Gir, com raças taurinas, como a Holandesa, é uma prática muito comum na pecuária, a exemplo da raça Girolando. Contudo, a possibilidade da disseminação silenciosa de doenças genéticas autossômicas recessivas é grande, devido a difícil identificação eficaz de portadores. Dessa forma, a genotipagem dos animais torna-se essencial para evitar perdas econômicas, servindo como um guia para cruzamentos. O presente estudo teve como objetivo a genotipagem de 490 touros da raça Girolando e 760 touros da raça Gir para o gene da BC por meio da técnica de PCR-RFLP, com posterior digestão com a enzima Ava II. Nenhum animal apresentou-se portador de BC, corroborando os relatos da literatura da não existência de rebanhos que contenham os alelos mutantes no Brasil. Assim sendo, a identificação de touros portadores de BC torna-se indispensável para manutenção do rebanho livre do gene mutante para a anomalia genética.

Termos para indexação: citrulinemia, gir, girolando, PCR-RFLP.

Evaluation of the presence of Gir and Girolando bulls carrying Citrullinemia in Brazil

Abstract — Bovine Citrullinaemia (BC) is a hereditary autosomal recessive disease based on the substitution of cytosine with thymine at codon 86 of the bovine argininosuccinate synthetase (ASS) gene located on chromosome BTA11 which was first described in Australia Holstein cattle. Animals affected by this genetic anomaly appear normal at birth, however, the disease progresses rapidly between the third and fifth day, leading to loss of vision, seizures, unsteady gait, and death. Crossbreeding indicine breeds, such as Gir, with taurine breeds, such as Holstein, is a common practice in livestock farming, exemplified by the Girolando breed. However, the possibility of silent dissemination of autosomal recessive genetic diseases is high due to the difficulty of effectively identifying carriers. Therefore, genotyping of animals is essential to avoid economic losses and to guide breeding decisions. This study aimed to genotype 490 Girolando bulls and 760 Gir bulls for the BC gene using PCR-RFLP, followed by digestion with the Ava II enzyme. No animals were found to be carriers of BC, and there are no reports in the literature of bovine herds carrying the mutant allele in Brazil. Thus, identifying BC carrier bulls is essential for maintaining a herd free from the mutant gene responsible for this genetic anomaly.

Index terms: Citrullinaemia, Gir, Girolando, PCR-RFLP.

Introdução

A Citrulinemia Bovina é uma doença autossômica recessiva hereditária que consiste no impedimento da síntese da enzima argininosuccinato sintetase (ASS), afetando a conversão da citrulina e aspartato em argininosuccinato e foi descrita primeiramente em animais da raça Holandesa na Austrália (Meydan et al., 2010; Rathore et al., 2020). O mecanismo genético da BC fundamenta-se na substituição de uma citosina por uma timina no códon 86 do gene ASS localizado no cromossomo BTA11. Essa alteração leva à conversão do códon CGA em TGA, que é um códon de parada de síntese proteica. Como consequência dessa alteração, o peptídeo truncado resultante apresentará apenas 85 aminoácidos ao invés dos 412 presentes na sequência original, comprometendo sua atividade enzimática. Níveis elevados de citrulina no sangue e desordens neurológicas são comumente observados, visto que o ciclo da ureia não ocorrerá normalmente, permitindo um acúmulo de amônia no organismo, culminando nos sinais clínicos característicos da doença (Meydan et al., 2010; Gebreselassie et al., 2019). Animais afetados por esta anomalia genética aparentam normais após o nascimento, mas começam a apresentar sinais de depressão e param de se alimentar a partir do segundo dia de vida. A doença progride rapidamente entre o terceiro e quinto dia, fazendo com que os animais percam a visão, apresentem convulsões, marcha instável e, eventualmente, venham a óbito (Meydan et al., 2010). Acredita-se que a BC foi disseminada por meio da comercialização do sêmen do touro Holandês americano Linmack Kriss King (Meydan et al., 2010).

O cruzamento de raças zebuínas, como a raça Gir, com raças taurinas, como a Holandesa, é uma prática muito comum na pecuária, principalmente por conta da alta produtividade leiteira de vacas Holandesas. Um exemplo é a raça Girolando, criada em 1996 pelo Ministério da Agricultura no Brasil, tornando-se importante para a pecuária em países de clima tropical. Esta tornou-se a raça que mais cresce no Brasil em relação à produção e comercialização de sêmen e à produção de leite (Silva et al., 2023). Nesse sentido, a possibilidade da disseminação silenciosa de doenças genéticas autossômicas recessivas é grande, uma vez que animais heterozigotos podem permanecer sem sinais clínicos durante anos, dificultando a identificação eficaz de portadores (Gebreselassie et al., 2019). Na criação de animais, desordens genéticas são um dos principais problemas para criadores, uma vez que um defeito em um único gene, em touros reprodutores, pode levar a inúmeros descendentes afetados, influenciando significativamente na pecuária. Dessa forma, a genotipagem dos animais torna-se essencial para identificar touros e vacas portadores, servindo como um guia para cruzamentos, no sentido de evitar a disseminação dos alelos mutantes nos rebanhos e minimizar perdas econômicas. Assim, o objetivo desse trabalho foi identificar indivíduos portadores de Citrulinemia Bovina em grupos de animais das raças Gir e Girolando.

O conteúdo desse documento 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 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

Amostras de sêmen foram coletadas de 490 touros Girolando e 760 touros Gir e enviadas ao laboratório de Genética Molecular da Embrapa Gado de Leite para análises. O DNA foi extraído por meio do protocolo fenol-clorofórmio adaptado (Sambrook; Russell, 2001) e a qualidade das amostras foi checada por meio da quantificação no espectrofotômetro NanoDrop ND-1000 (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA). As amostras foram armazenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o uso.

Para amplificação do fragmento do gene da BC, foi realizado um ensaio de PCR-RFLP, utilizando os primers para o gene ASS, sendo eles F: 5' GGCCAGGGACCGTGTTTCATTGAGGACATC 3' e R: 5' TTCCTGGGACCCCGTGAGACACATACTTG 3' (Meydan et al., 2010). Posteriormente, a reação foi submetida à digestão pela enzima de restrição Ava II. Todas as reações foram submetidas ao termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA), reveladas em gel de eletroforese em agarose 2%, coradas durante 30 minutos em brometo de etídio a 0,3% e visualizadas utilizando o software do Eagle Eye II (Stratagene, La Jolla, CA, EUA).

Resultados e discussão

Dos 490 touros Girolando e 760 touros Gir analisados, nenhum animal foi identificado como portador do gene para Citrulinemia. O produto da reação de PCR para BC é um fragmento de 198 pb para todos os animais (Figura 1). A digestão do amplicon com a enzima de restrição Ava II gera fragmentos de 89 e 109 pb para animais normais (Figura 2); de 89, 109 e 198 para animais portadores e de 198 para animais doentes (Meydan et al., 2010).

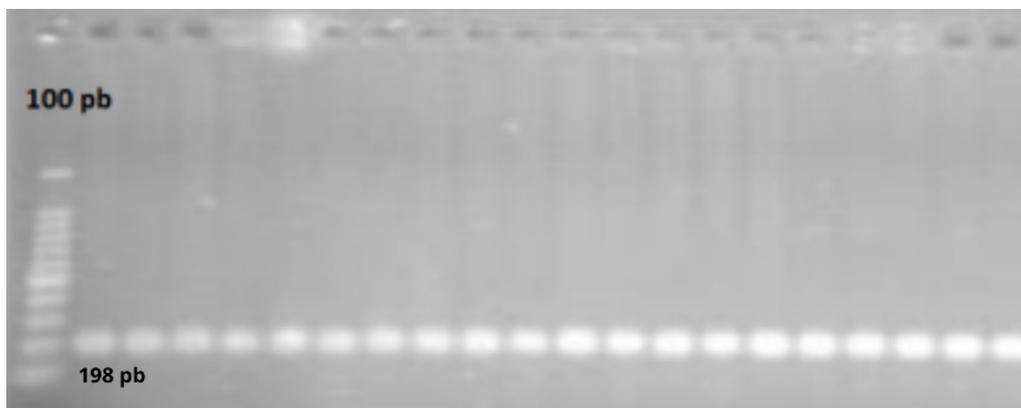


Figura 1. Padrão do fragmento para a PCR de Citrulinemia. Marcador de 100 pb foi utilizado na extremidade esquerda.

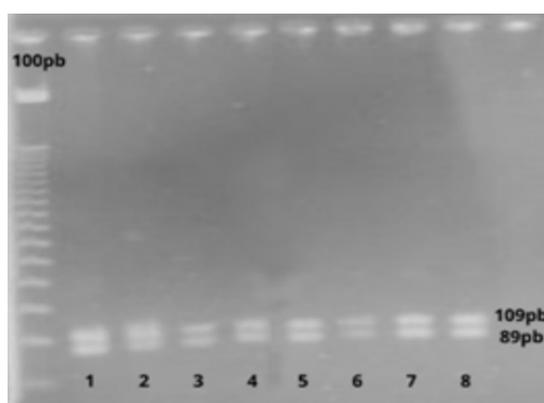


Figura 2. Padrões dos fragmentos para a digestão de Citrulinemia. Os animais de 1 a 8 são normais e apresentam as bandas de 89 e 109 pb. Marcador de 100 pb foi utilizado na extremidade esquerda.

A ausência da desordem genética em touros da raça Gir pode ser explicada pelo fato de que, inicialmente essa doença parece ter sido propagada por meio da comercialização em larga escala do sêmen do touro americano da raça Holandesa Linmack Kriss King (Meydan et al., 2010).

Com resultados similares aos apresentados neste estudo, não foram encontrados animais portadores em diferentes rebanhos de animais da raça Holandesa na Turquia (Meydan et al., 2010), da raça Sahiwal e Holandeses mestiços na Índia (Rathore et al., 2020), da raça Holandesa e Holandeses mestiços, também na Índia (Gebreselassie et al., 2019) e da raça Holandesa no Brasil, sendo que não existem relatos sobre a portabilidade dos haplótipos para a BC no país (Pilonetto et al., 2019).

Em contrapartida, estudos mais antigos mostram a presença de animais portadores em rebanhos dos Estados Unidos (Robinson et al., 1993), da Alemanha (Grupe et al., 1996) e da Índia (Padeeri et al., 1999). A discrepância nos resultados com relação à presença de portadores em estudos mais antigos e ausência nos mais recentes, é reflexo do uso anterior de reprodutores afetados em regiões diferentes, ressaltando a importância da genotipagem e do melhoramento genético.

Conclusões

Tendo em vista os resultados obtidos neste estudo, a identificação de touros portadores de Citrulinemia é indispensável para manutenção do rebanho livre dos haplótipos para a anomalia genética.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Brasil e à Embrapa Gado de Leite pela oportunidade da bolsa recebida do Programa PIBIC, o que nos proporcionou obter experiência e aprendizado; ao pesquisador Marco Antônio Machado pela orientação.

Referências

GEBRESELASSIE, G.; DE, S.; MUKHERJEE, A.; GOHAIN, M. Allele specific PCR based genotyping reveals lack of bovine leukocyte adhesion deficiency, bovine citrullinemia and complex vertebral malformation carriers in Indian cattle population. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 8, n. 5, p. 1581-1589, 2019. DOI: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.805.183>.

GRUPE, S.; DIETL, G.; SCHWERIN, M. M. Population survey of citrullinemia on German Holsteins. **Livestock Production Science**, v. 45, n. 1, p. 35-38, 1996. DOI: [https://doi.org/10.1016/0301-6226\(95\)00078-X](https://doi.org/10.1016/0301-6226(95)00078-X).

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, article 56, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1186/1751-0147-52-56>.

PADEERI, M.; VIJAYKUMAR, K.; GRUPE, S.; NARAYAN, M. P.; SCHWERIN, M.; KUMAR, M. H. Incidence of hereditary Citrullinemia and bovine leukocyte adhesion deficiency Syndrome in Indian dairy cattle (BOS TAURUS, BOS INDICUS) and buffalo (BUBALUS BUBALIS) Population (short communication), **Archives Animal Breeding**, v. 42, p. 347-352, 1999. DOI: <https://doi.org/10.5194/aab-42-347-1999>.

PILONETTO, F.; LADEIRA, G. C.; SALVIAN, M.; GERVÁSIO, I. C.; ZAMPAR, A.; CUCCO, D. de C. Associações genéticas entre características de interesse econômico e identificação de haplótipos para doenças genéticas em vacas da raça Holandesa criadas no Brasil. **Livestock Research for Rural Development**, v. 31, n. 12, article 188, 2019. Disponível em: <http://www.lrrd.org/lrrd31/12/pilon31188.html>. Acesso em: 14 jun. 2024.

RATHORE, A.; PARVEEN, K.; SINGH, M.; JAIN, A.; MUKHERJEE, K.; BARWA, D. K.; JAIN, T.; SINGH, N. Genotyping bovine leukocyte adhesion deficiency and bovine Citrullinemia in Sahiwal and Holstein cross bred animals of Durg district of Chhattisgarh state. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 8, n. 4, p. 481-486, 2020. Disponível em: <https://www.entomoljournal.com/archives/2020/vol8issue4/Parth/8-3-404-494.pdf>. Acesso em: 14 jun. 2024.

ROBINSON, J. L.; BURNS, J. L.; MAGURA, C. E.; SHANKS, R. D. Low incidence of citrullinemia carriers among dairy cattle of the United States. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 3, p. 853-858, 1993. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77411-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77411-1).

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D. **Molecular cloning**: a laboratory manual. 3rd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.

SILVA, M. V. G. B.; MARTINS, M. F.; FERREIRA JÚNIOR, 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.; BORGES, C. A. V.; DOMINGUES, R. (ed.). **Programa de Melhoramento Genético da Raça Girolando**: sumário de touros: resultado do teste de progênie (avaliação genética/genômica): junho 2023. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2023. 143 p. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 277). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1154303>. Acesso em: 14 jun. 2024.

Genotipagem de genes de proteínas do leite, kappa-caseína, beta-caseína e beta-lactoglobulina, em touros Gir e Girolando

Letícia Milena de Jesus⁽¹⁾(⁷), Ariany Lacerda Nogueira⁽²⁾, Lidiane Loeffler Lima⁽³⁾, Raissa Cury Ferreira⁽⁴⁾, Daniele Ribeiro de Lima Reis Faza⁽⁵⁾, Robert Domingues⁽⁵⁾, Marco Antonio Machado⁽⁶⁾, Marta Fonseca Martins⁽⁶⁾, Marcos Vinicius Gualberto Barbosa da Silva⁽⁶⁾.

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/CNPq.), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Estudante de graduação, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾Estudante de graduação, Centro Universitário do Sudeste Mineiro, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾Estudante de graduação, Universidade Presidente Antônio Carlos, Juiz de Fora, MG. ⁽⁵⁾Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁶⁾Pesquisadores, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁷⁾E-mail: leticiamilenadejesus@gmail.com.

Resumo — O leite fornece nutrientes essenciais e contém proteínas importantes como caseínas, lactoglobulinas e albuminas, que influenciam a sua qualidade, como o aumento do rendimento de alguns produtos lácteos. Os programas de melhoramento genético genotipam os touros para seleção dos alelos favoráveis destas proteínas. Assim, cada alelo dessas proteínas tem efeitos específicos, na kappa-caseína, o alelo A está associado a menor rendimento para produção de queijo, enquanto o alelo B resulta em maior rendimento. Enquanto para beta-caseína, o alelo A1 está ligado a problemas nutricionais e de saúde em humanos, já o alelo A2 promove maior produção de leite e proteína. Por fim, na beta-lactoglobulina, o alelo A aumenta a produção de leite, enquanto o alelo B confere maior teor de proteína e gordura. Esse estudo teve como objetivo a identificação dos genótipos para os genes da beta-lactoglobulina, kappa e beta-caseína para divulgação no Sumário de Touros da Raça Girolando e Gir Leiteiro. Para isto, foi extraído DNA de touros das raças Girolando (N=91) e Gir (N=42). Utilizou-se a técnica de amplificação por tetra ARMS-PCR e PCR-RFLP, seguidas de eletroforese para a identificação dos genótipos. O resultado evidenciou uma predominância do genótipo A2A2 na beta-caseína, com frequências de 92,86% na raça Gir e 65,9% na raça Girolando. Enquanto na kappa-caseína, a frequência do genótipo AA foi de 92,9% na Gir e 51,6% na Girolando. A beta-lactoglobulina exibiu distribuição equilibrada dos alelos A e B, com o genótipo AB apresentando 52,3% na Gir e 64,1% na Girolando. Estes resultados são relevantes para programas de melhoramento genético, pois com essas informações nos sumários de touros Gir e Girolando, os produtores podem escolher os melhores touros com base nas características desejáveis.

Termos para indexação: genotipagem, proteínas do leite, kappa-caseína, beta-caseína, beta-lactoglobulina, melhoramento genético.

Genotyping of Milk Protein Genes, Kappa-Casein, Beta-Casein, and Beta-Lactoglobulin, in Gir and Girolando Bulls

Abstract — Milk provides essential nutrients and contains important proteins such as caseins, lactoglobulins, and albumins, which influence its quality, including increasing the yield of certain dairy products. Genetic improvement programs genotype bulls to select favorable alleles for these proteins. Each allele of these proteins has specific effects: for kappa-casein, the A allele is associated with lower cheese production yield, while the B allele results in higher yield. Regarding beta-casein, the A1 allele is linked to nutritional and health issues in humans, whereas the A2 allele is associated with higher milk and protein production. In the case of beta-lactoglobulin, the A allele increases milk production, while the B allele contributes to higher protein and fat content. This study aimed to identify the genotypes for the beta-lactoglobulin, kappa-casein, and beta-casein genes for publication in the Girolando and Gir Leiteiro Bull Summary. For this purpose, DNA was extracted from

bulls of the Girolando (N=91) and Gir (N=42) breeds. The tetra ARMS-PCR and PCR-RFLP amplification techniques were used, followed by electrophoresis to identify the genotypes. The results showed a predominance of the A2A2 genotype in beta-casein, with frequencies of 92.86% in the Gir breed and 65.9% in the Girolando breed. In kappa-casein, the frequency of the AA genotype was 92.9% in Gir and 51.6% in Girolando. Beta-lactoglobulin exhibited a balanced distribution of A and B alleles, with the AB genotype presenting 52.3% in Gir and 64.1% in Girolando. These results are relevant for genetic improvement programs, as the information in the Gir and Girolando bull summaries allows producers to select the best bulls based on desirable traits.

Index terms: genotypin, milk proteins, kappa-casein, beta-casein, beta-lactoglobulin, genetic improvement.

Introdução

O leite é uma fonte nutritiva essencial na alimentação humana por milênios, fornecendo uma rica diversidade de nutrientes como vitaminas, minerais e proteínas (Renhe, 2008). A composição do leite destaca-se pelas caseínas e proteínas do soro, cuja qualidade é influenciada diretamente pelo seu conteúdo proteico, com destaque para as caseínas, lactoglobulinas e lactoalbuminas (Panetto et al., 2024).

Alguns genes de proteínas do leite, como a kappa-caseína e a beta-caseína, são de grande interesse para a cadeia produtiva. A kappa-caseína apresenta genótipos AA, AB e BB, sendo que o genótipo BB está associada a um maior rendimento na produção de queijo em relação às demais (Panetto et al., 2023). Em relação à beta-caseína, as variantes A1 e A2 provocam reações diferentes no consumo humano de leite bovino. A proteína A1 pode trazer efeitos adversos à saúde devido à formação do peptídeo betacasomorfina -7 (BCM-7) quando digerida no trato digestivo (Barbosa et al., 2019). Já a proteína A2 está associado a uma melhor digestibilidade pela não formação do BCM-7 quando a proteína é hidrolisada (Silva et al., 2023).

A beta-lactoglobulina é a principal proteína presente no soro do leite, sendo os alelos A e B os mais frequentes. O alelo A está associado a uma maior produção de leite. Em contraste, o alelo B está associado a níveis mais altos de gordura e proteína. Assim, o leite de animais com genótipo AA é recomendado para consumo direto, enquanto o leite de animais com genótipo BB é mais apropriado para a fabricação de produtos lácteos, como queijo (Silva et al., 2024).

Os Programas Nacionais de Melhoramento de Girolando e do Gir Leiteiro foram criados a partir de uma parceria entre as Associações das respectivas raças e a Embrapa Gado de Leite com o objetivo de identificar touros geneticamente superiores para a produção de leite (Panetto et al., 2024). A análise dos genótipos das proteínas do leite permite aos produtores identificarem touros mais eficientes na produção de leite e derivados, aumentando a produção e permitindo cruzamentos direcionados. Assim, o objetivo deste trabalho foi genotipar touros das raças Gir e Girolando participantes dos programas de melhoramento das raças Gir e Girolando.

O conteúdo desse documento 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 1 – “Erradicação da pobreza: Acabar com a pobreza em todas as suas formas, em todos os lugares”; 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

A genotipagem foi realizada com as etapas de extração do DNA, quantificação, PCR e eletroforese. A extração do DNA das 42 amostras de sêmen de Gir e 91 amostras de Girolando foi feita com um protocolo baseado em fenol: clorofórmio adaptado de Sambrook e Russel (2001). A quantificação foi realizada por espectrofotometria no equipamento NanoDrop ND-1000 (Thermo Scientific, EUA). A genotipagem das proteínas do leite seguiu a metodologia para kappa-caseína de Ricon e Medrano, 2003, para beta-caseína de Ali et al. (2019) e para beta-lactoglobulina, de Medrano e Cordova, 1990. Após a técnica de PCR, as reações foram reveladas em gel eletroforese em agarose 1,5% e 2% para os genes da beta-caseína e kappa-caseína respectivamente e em poliacrilamida 8% para os genes da beta-lactoglobulina. Os genótipos foram identificados a partir da leitura das bandas nos géis.

Resultados e discussão

A análise dos genótipos das 42 amostras de Gir e das 91 de Girolando foi realizada com base nos tamanhos das bandas identificadas no gel de eletroforese. Na Tabela 1, é apresentado a frequência alélica observada para as diferentes raças, enquanto na Tabela 2, é apresentada a frequência genotípica.

Tabela 1. Frequência Alélica dos genes que codificam as proteínas beta-caseína, beta-lactoglobulina e kappa-caseína nas raças Gir e Girolando.

Gene		Beta-Caseína		Beta-lactoglobulina		Kappa-Caseína	
Alelo		A1	A2	A	B	A	B
Raça	Gir	0,036	0,964	0,547	0,453	0,964	0,036
	Girolando	0,176	0,824	0,538	0,462	0,742	0,258

Tabela 2. Frequência Genotípica dos genes que codificam as proteínas beta-caseína, beta-lactoglobulina e kappa-caseína nas raças Gir e Girolando.

Gene		Beta-Caseína			Beta-lactoglobulina			Kappa-Caseína		
Genótipo		A1A1	A1A2	A2A2	AA	AB	BB	AA	AB	BB
Raça	Gir	0	0,0714	0,9286	0,285	0,523	0,19	0,929	0,071	0
	Girolando	0,011	0,330	0,659	0,217	0,641	0,141	0,516	0,451	0,033

Na raça Gir, o genótipo A2A2 apresenta uma frequência de 92,86%, enquanto na raça Girolando, essa frequência é de 65,9%. Estes resultados estão de acordo com os resultados da literatura, em raças zebuínas, a frequência do alelo A2 é muito alta, variando de 92% a 100%, como as raças leiteiras como Gir, Tharparkar, Rathi, Red Sindhi e Sahiwal (Mukesh et al., 2022). A predominância do alelo A2 na beta-caseína é um resultado promissor, dado o interesse crescente em produtos A2 devido aos seus potenciais benefícios à saúde.

Em um estudo de Ladyka et al. (2022) sobre genótipos da kappa-caseína, foi demonstrado que diferentes raças leiteiras possuem distribuições variadas dos genótipos e que existe potencial para aumentar a seleção para genótipos BB e melhorar a qualidade do leite e do

queijo. Na raça Gir, o genótipo AA é apresentada a frequência de 92,9%, enquanto na raça Girolando, essa frequência é de 51,6%.

Na raça Gir, o genótipo AB tem uma frequência de 52,3%, e na raça Girolando, a frequência é de 64,1%. Boushaba e Tabet-Aoul (2024) investigou a frequência de alelos e genótipos em populações locais de gado argelino e demonstram a prevalência do alelo B em relação aos outros, corroborando com o estudo Borato et al. (2008) que apresentou uma maior frequência da variante B em rebanhos das raças Holandesa e Girolando no Brasil.

A variação genética entre raças leiteiras é influenciada por seleção artificial, adaptações locais e práticas de manejo. Análises dos genótipos de kappa-caseína, beta-caseína e beta-lactoglobulina mostram a complexidade genética do gado leiteiro e suas implicações para a produção de leite. A seleção genética para qualidade do leite busca aumentar alelos benéficos, como o A2 na beta-caseína. A seleção de alelos da kappa-caseína também se relaciona com o tipo de produto desejado. Assim, estratégias de melhoramento genético podem melhorar a produção de leite e a qualidade nutricional dos seus derivados, atendendo à demanda por produtos lácteos mais saudáveis e de maior valor agregado.

Conclusões

A avaliação dos polimorfismos dos genes das proteínas do leite em touros Gir e Girolando revelou uma alta predominância do alelo A2 para a beta-caseína, o que é promissor para a produção de leite A2, e uma alta frequência do genótipo AA na kappa-caseína, o que mostra um campo a ser melhorado quando o interesse é a produção de queijos. Estes resultados são relevantes para programas de melhoramento genético, pois com essas informações nos sumários de touros Gir e Girolando, os produtores podem escolher os melhores touros com base nas características desejáveis.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Brasil, INCT de Ciência Animal/ CNPq e a Embrapa Gado de Leite pelo apoio recebido.

Referências

- ALI, W. R.; AMIN, I.; ASIF, M.; MANSOOR, S. Genotyping test development and genotyping survey of Pakistani population of Holstein Friesian imported from different origins for A1/A2 SNP in Beta-casein gene. **BioRxiv**, article 720045, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1101/720045>.
- BARBOSA, M. G.; SOUZA, A. B.; TAVARES, G. M.; ANTUNES, A. E. C. Leites A1 e A2: revisão sobre seus potenciais efeitos no trato digestório. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 26, e019004, 2019. DOI: <https://doi.org/10.20396/san.v26i0.8652981>.
- BORATO, B. G.; LIMA, Y. V. R.; AQUINO, A. A.; FERNANDES, R. H. R.; GARCIA, J. F.; SANTOS, M. V. Effect of beta-lactoglobulin polymorphism and seasonality on bovine milk composition. **Journal of Dairy Research**, v. 75, n. 2, p. 176-181, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1017/s0022029908003269>.
- BOUSHABA, N.; TABET-AOUL, N. Allele and genotype frequencies of β -lactoglobulin gene using PCR-RFLP in Algerian local cattle populations. **Molecular Biology Research Communications**, v. 13, n. 1, p. 43-49, 2024. DOI: <https://doi.org/10.22099%2Fmbr.2023.47661.1841>.
- LADYKA, V.; DREVTYSKA, T.; PAVLENKO, J.; SKLIARENKO, Y.; LAHUTA, T.; DREVTYSKYI, O.; DOSENKO, V. Evaluation of cow genotypes by kappa-casein of dairy breeds. **Acta Fytotechnica et Zootechnica**, v. 25, n. 1, p. 1-6, 2022. DOI: <https://doi.org/10.15414/afz.2022.25.01.1-6>.

MEDRANO, J. F.; AGUILAR-CORDOVA, E. Polymerase chain reaction amplification of bovine β -lactoglobulin genomic sequences and identification of genetic variants by RFLP analysis. **Animal Biotechnology**, v. 1, n. 1, p. 73-77, 1990. DOI: <https://doi.org/10.1080/10495399009525730>.

MUKESH, M.; SWAMI, S.; BHAKHRI, G.; CHAUDHARY, V.; SHARMA, V.; GOYAL, N.; VIVEK P.; DALAL V.; MOHANTY, A. K.; KATARIA, R. S.; KUMARI, P.; NIRANJAN, S. K.; SODHI, M. Demographic pattern of A1/A2 beta casein variants indicates conservation of A2 type haplotype across native cattle breeds (*Bos indicus*) of India. **3 Biotech**, v. 12, n. 8, 167, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13205-022-03232-0>.

PANETTO, J. C. do C.; SILVA, M. V. G. B.; VERNEQUE, R. da S.; MACHADO, M. A.; FERNANDES, A. R.; MARTINS, M. F. (ed.). **Programa Nacional de Melhoramento do Gir Leiteiro: sumário brasileiro de touros: 7a avaliação genômica de touros: resultado do teste de progênie**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2024. 115 p. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 283). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1163946>. Acesso em: 15 jul. 2024.

PANETTO, J. C. do C.; SILVA, M. V. G. B.; VERNEQUE, R. da S.; MACHADO, M. A.; FERNANDES, A. R.; TEIXEIRA, R. B.; MACHADO, C. H. C.; MARTINS, M. F.; REIS, D. R. de L.; BORGES, C. A. V.; OLIVEIRA, J. C. de; VENTURA, H. T.; PEREIRA, M. A.; MACHADO, M. S.; MOURA, G. M. (ed.). **Programa Nacional de Melhoramento do Gir Leiteiro: sumário brasileiro de touros: 6ª avaliação genômica de touros: resultado do teste de progênie - abril 2023**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2023. 126 p. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 273). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1153450>. Acesso em: 15 jul. 2024.

RENHE, I. R. T. O papel do leite na nutrição. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 63, n. 363, p. 36-43, 2008.

SAMBROOK, J.; RUSSEL, D. W. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 3rd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.

SILVA, D. B. da; REIS, E. M. B.; SANTOS, B. R. C. dos; MONTAGNER, A. E. A. D.; PINEDO, L. A. Ocorrência de animais produtores de leite A2A2: estudo de caso em uma propriedade do município de Rio Branco - Acre. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 6, n. 3, p. 2808-2818, 2023. DOI: <https://doi.org/10.34188/bjaerv6n3-065>.

SILVA, M. V. G. B.; MARTINS, M. F.; FERREIRA JÚNIOR, E.; PANETTO, J. C. do C.; MACHADO, M. A. (ed.). **Programa de Melhoramento Genético da Raça Girolando: sumário de touros: resultado do teste de progênie (avaliação genética/ genômica): junho 2024**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2024. 135 p. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 288). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1164791>. Acesso em: 15 jul. 2024.

RINCÓN, G.; MEDRANO, J. F. Single nucleotide polymorphism genotyping of bovine milk protein genes using the tetra-primer ARMS-PCR. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 120, n. 5, p. 331-337, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1439-0388.2003.00405.x>.

Bem estar subjetivo dos produtores de leite em Minas Gerais: atividade leiteira, rentabilidade, suporte governamental e crédito

Ítalo de Paula Bellozi⁽¹⁾⁽⁴⁾, Glauco Rodrigues Carvalho⁽²⁾ e Clesiane de Oliveira Carvalho⁽³⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/CNPq.), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾ Professora, Universidade Federal de São João del-Rei, São João del-Rei, MG. ⁽⁴⁾E-mail: belloziitalo@gmail.com.

Resumo — Este estudo investigou a satisfação dos produtores de leite em Minas Gerais, analisando bem-estar subjetivo e aspectos relacionados à felicidade, sucessão familiar e utilidade na produção. A metodologia envolveu a aplicação de questionários estruturados em abril de 2024, com 116 produtores, cobrindo quatro categorias: acesso e estrutura da fazenda, atividade leiteira e rentabilidade, equipamentos e recursos de produção, e relação com instituições políticas e econômicas. Os resultados mostraram satisfação moderada a alta em moradia e infraestrutura básica, mas insatisfação significativa com conectividade, segurança e rentabilidade. As conclusões destacam a necessidade de melhorias nas políticas públicas, suporte financeiro e infraestrutura para aumentar a qualidade de vida e a sustentabilidade da atividade leiteira no estado.

Termos para indexação: bem-estar, produtor de leite, felicidade, sucessão familiar, utilidade, políticas públicas.

Analysis of Satisfaction Levels of Rural Producers

Abstract — This study investigated the satisfaction of dairy producers in Minas Gerais, analyzing subjective well-being and aspects related to happiness, family succession, and utility in production. The methodology involved administering structured questionnaires in April 2024 to 116 producers, covering four categories: farm access and infrastructure, dairy activity and profitability, production equipment and resources, and relationships with political and economic institutions. The results showed moderate to high satisfaction with housing and basic infrastructure but significant dissatisfaction with connectivity, security, and profitability. The conclusions highlight the need for improvements in public policies, financial support, and infrastructure to enhance the quality of life and sustainability of dairy farming in the state.

Index terms: dairy producer, happiness, family succession, utility, public policies.

Introdução

A produção de leite é uma atividade agrícola importante no Brasil e globalmente. Em 2023, a FAO relatou que a produção global atingiu 967,7 milhões de toneladas. Na América do Sul, a produção foi de 68 milhões de toneladas, um aumento de 0,7% impulsionado principalmente pelo Brasil, o maior produtor da região. Minas Gerais destacou-se como responsável por cerca de 27% da produção nacional em 2022, segundo o IBGE. Além dos aspectos quantitativos, a produção leiteira deve ser analisada sob a perspectiva da economia do bem-estar. Segundo Johnson (1966), a economia do bem-estar estuda como a distribuição de recursos e o funcionamento dos mercados impactam a qualidade de vida e o bem-estar dos indivíduos. Aplicada ao setor leiteiro, essa abordagem permite avaliar como as condições de vida e trabalho dos produtores de leite afetam a eficiência produtiva e a satisfação geral dos trabalhadores. Pesquisas em regiões como a China mostram que, apesar das disparidades econômicas e desafios, os trabalhadores rurais podem relatar altos níveis de felicidade (Knight et al., 1999). Esses achados ressaltam a importância de considerar o bem-estar subjetivo ao analisar setores rurais.

Para investigar esses aspectos no contexto de Minas Gerais, foi conduzida uma pesquisa sobre o bem-estar dos produtores de leite no estado. Este estudo buscou avaliar a satisfação dos produtores em áreas como infraestrutura, atividade leiteira, equipamentos e recursos de produção, e a relação com instituições políticas e econômicas. Compreender essas dinâmicas é crucial para formular políticas públicas eficazes e estratégias empresariais que melhorem a qualidade de vida e a sustentabilidade da atividade leiteira, fortalecendo assim a cadeia produtiva do leite no Brasil.

O conteúdo desse documento 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 do ODS 10 - Reduzir a desigualdade dentro dos países e entre eles.

Material e métodos

Este estudo visou analisar as condições de vida e trabalho dos produtores de leite em Minas Gerais para identificar áreas de melhoria e promover o bem-estar no setor. A metodologia aplicada consistiu na administração de questionários em abril de 2024 a uma amostra de 116 produtores. Os questionários abordaram quatro categorias principais: acesso e estrutura da fazenda, atividade leiteira e rentabilidade, equipamentos e recursos de produção, e relação com instituições políticas e econômicas. Cada participante avaliou seu nível de satisfação em uma escala de "completamente infeliz" a "completamente feliz".

Na etapa inicial, foram realizadas Reuniões de Grupo Focal com produtores de diversas regiões e diferentes estratos de produção e renda. Empresas de laticínios contribuíram fornecendo listas dos produtores e suas localizações, permitindo a seleção de uma amostra probabilística com margens de erro pré-estabelecidas. Após a coleta dos questionários, os dados foram tabulados e analisados. A modelagem dos dados foi realizada utilizando modelos de equações estruturais, que permitiram a criação de múltiplos indicadores e a modelagem simultânea de vários processos, com a vantagem de mensurar erros de medida. A análise final dos dados incluiu 40 perguntas distribuídas entre as quatro categorias mencionadas.

Resultados e discussão

A pesquisa apresenta uma análise dos níveis de satisfação dos produtores rurais em relação a diversos aspectos de suas atividades e condições de vida. A avaliação foi feita com

base em uma pesquisa que incluiu categorias como moradia, acessibilidade, infraestrutura, atividade leiteira e relação com instituições políticas e econômicas. Os níveis de satisfação foram medidos em uma escala que vai de "Completamente infeliz" a "Completamente feliz".

Acesso e estrutura da fazenda: a primeira categoria analisada focou na infraestrutura e condições de acesso às fazendas. A Tabela 1 apresenta os níveis de satisfação e relacionados ao acesso e estrutura da fazenda.

Tabela 1. Níveis de satisfação relacionados ao acesso e estrutura da fazenda.

Nível de satisfação	Acesso à minha fazenda	Sinal de telefone e internet	Minha segurança física/fazenda	Minha moradia/sede física da fazenda	Sentimento geral sobre minha fazenda	Condições de luz, água e esgoto
Completamente infeliz	9,5%	9,5%	7,8%	6,0%	5,2%	4,3%
Infeliz	14,7%	26,7%	15,5%	9,5%	6,9%	13,8%
Moderadamente feliz	23,3%	30,2%	44,0%	19,8%	48,3%	26,7%
Feliz	38,8%	25,0%	27,6%	44,8%	32,8%	42,2%
Completamente feliz	13,8%	8,6%	5,2%	19,8%	6,9%	12,9%

Os dados revelam que a maioria dos produtores rurais está moderadamente feliz ou feliz com as condições de moradia e a sede física da fazenda, refletindo uma boa qualidade de vida em termos de infraestrutura básica. Contudo, a satisfação com o acesso à fazenda, condições de luz, água, esgoto e segurança física apresenta variações significativas, indicando áreas que necessitam de melhorias. A conectividade, especialmente no que diz respeito ao sinal de telefone e internet, é uma área de preocupação demonstrando a necessidade de investimentos em infraestrutura digital.

Atividade leiteira e rentabilidade: A segunda categoria analisada focou em aspectos financeiros e de renda. A Tabela 2 apresenta os níveis de satisfação relacionados à atividade leiteira e rentabilidade da atividade.

Tabela 2. Níveis de satisfação relacionados à atividade leiteira e rentabilidade.

Nível de satisfação	Preço do leite	Custo de produção	Renda da atividade	Minha situação financeira	Atividade leiteira
Completamente infeliz	53,4%	30,2%	26,7%	13,8%	11,2%
Infeliz	34,5%	44,0%	40,5%	34,5%	30,2%
Moderadamente feliz	10,3%	23,3%	26,7%	40,5%	38,8%
Feliz	0,9%	2,6%	6,0%	10,3%	15,5%
Completamente feliz	0,9%	-	-	0,9%	4,3%

A insatisfação é predominante em relação ao preço do leite, custo de produção e renda da atividade. A maioria dos produtores se declara infeliz ou completamente infeliz nesses aspectos, enquanto a satisfação com a atividade leiteira em si é ligeiramente melhor, mas ainda insuficiente. Isso sinaliza a necessidade de intervenções estratégicas, como mecanismos de coordenação de cadeia e melhor gestão de custos, para aumentar a rentabilidade e sustentabilidade financeira dos produtores.

Equipamentos e recursos para a produção: a terceira categoria analisada foi referente aos equipamentos e recursos utilizados na produção. A Tabela 3 apresenta os níveis de satisfação relacionados aos equipamentos e recursos para a produção.

Tabela 3. Níveis de satisfação relacionados aos equipamentos e recursos para a produção.

Nível de satisfação	Equipamentos de ordenha	Minha produção de volumoso	Máquinas e implementos	Genética do meu rebanho
Completamente infeliz	4,3%	1,7%	1,7%	0,9%
Infeliz	9,5%	5,2%	22,4%	5,2%
Moderadamente feliz	39,7%	38,8%	37,9%	32,8%
Feliz	41,4%	42,2%	34,5%	45,7%
Completamente feliz	5,2%	12,1%	3,4%	15,5%

Fonte: Elaborada por Embrapa Gado de Leite, 2024.

A satisfação é relativamente alta com os equipamentos de ordenha, produção de volumoso e a genética dos rebanhos, com a maioria dos produtores se sentindo moderadamente feliz ou feliz. No entanto, há uma insatisfação notável com as máquinas e implementos utilizados na fazenda, sugerindo a necessidade de atualização e melhoria desses recursos para aumentar a eficiência e produtividade.

Relação com as instituições políticas e econômicas: a última categoria analisada abordou a relação dos produtores com as Instituições Políticas e Econômicas. A Tabela 4 apresenta os níveis de satisfação relacionados à relação com as Instituições Políticas e econômicas.

Tabela 4. Níveis de satisfação relacionados à relação com as Instituições Políticas e Econômicas.

Nível de satisfação	Apoio do governo	Assistência técnica	Acesso a crédito de custeio e investimento	Taxa de juros para financiamento do leite	Prazos de financiamento bancário para o leite
Completamente infeliz	57,8%	31,0%	25,0%	23,3%	12,1%
Infeliz	31,0%	48,3%	44,0%	35,3%	28,4%
Moderadamente feliz	8,6%	18,1%	25,0%	30,2%	25,0%
Feliz	1,7%	1,7%	4,3%	10,3%	31,0%
Completamente feliz	0,9%	0,9%	1,7%	0,9%	3,4%

Fonte: Elaborada por Embrapa Gado de Leite, 2024.

Há uma clara insatisfação com o apoio do governo, assistência técnica e acesso a crédito, com a maioria dos produtores se sentindo completamente infeliz ou infeliz. As taxas de juros e prazos de financiamento também são fontes de insatisfação, embora um pouco menos pronunciadas. Estes resultados indicam uma necessidade urgente de melhorias nas políticas públicas e no suporte financeiro para os produtores de leite, a fim de aumentar sua satisfação e viabilidade econômica.

Conclusões

A análise dos níveis de satisfação dos produtores rurais em Minas Gerais revela um cenário variado, com satisfação moderada a alta em áreas como moradia e infraestrutura básica, mas problemas significativos em conectividade, segurança e rentabilidade da atividade leiteira. Há profunda insatisfação com o apoio governamental, assistência técnica e acesso a crédito, destacando a necessidade de intervenções políticas e econômicas para melhorar a sustentabilidade financeira dos produtores. Para garantir competitividade no mercado atual, é crucial implementar políticas públicas eficientes, oferecer suporte financeiro adequado, melhorar as condições de infraestrutura e investir em tecnologia e conectividade. Essas melhorias são essenciais para a satisfação dos produtores, a sustentabilidade das atividades leiteiras e o fortalecimento da cadeia produtiva do leite no Brasil.

Agradecimentos

À Embrapa Gado de Leite e FAPED pela oportunidade da bolsa de estágio. Ao pesquisador Glauco Rodrigues Carvalho pelo acompanhamento, orientação e apoio. À Fapemig pelo suporte financeiro no projeto APQ-00781-17.

Referências

FAO. **Dairy market review**: overview of global market developments in 2023. Rome, 2024.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **Orientações do CEP/ENSP para a apresentação e consentimento em pesquisas que serão realizadas online / ambiente virtual**. Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: https://cep.ensp.fiocruz.br/sites/default/files/instrutivo_para_consentimento_em_pesquisas_online_julho_2020.docx. Acesso em: 12 jul. 2024.

IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA. **Pesquisa da Pecuária Municipal**. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/ppm/quadros/brasil/2022>. Acesso em: 12 jul. 2024.

JOHNSON, G. Economia do bem-estar e política agrária. **Revista Brasileira de Economia**, v. 20, n. 1, p. 5-18, 1966. Disponível em: <https://periodicos.fgv.br/rbe/article/view/1751/2768>. Acesso em: 12 jul. 2024.

KNIGHT, J.; SONG, L.; GUNATILAKA, R. Subjective well-being and its determinants in rural China. **China Economic Review**, v. 20, n. 4, p. 635-649, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chieco.2008.09.003>.

Bem estar subjetivo dos produtores de leite em Minas Gerais: vida social, saúde, trabalho e lazer

Henrique Salles Terror⁽¹⁾⁽⁴⁾, Glauco Rodrigues Carvalho⁽²⁾ e Clesiane de Oliveira Carvalho⁽³⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/CNPq.), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾ Professora, Universidade Federal de São João del-Rei, São João del-Rei, MG. ⁽⁴⁾ E-mail: henriquesterror@gmail.com

Resumo — A pesquisa sobre o bem-estar dos produtores de leite em Minas Gerais apresenta questões relevantes sobre o cotidiano desses produtores. Embora a maioria dos participantes se sinta satisfeita com sua vida, em geral, há preocupações significativas com saúde mental e tempo de descanso. Cerca de 16% dos entrevistados relataram algum nível de infelicidade em relação à saúde mental; apesar de não ser a maioria, tal número indica uma necessidade de suporte nessa área. Quanto ao tempo de descanso, apenas 20% expressaram satisfação, destacando uma demanda por uma jornada de trabalho reduzida.

Termos para indexação: bem estar do produtor, pecuária de leite, saúde mental do produtor, tempo de descanso e lazer.

Analysis of Dairy Producers' Satisfaction Levels

Abstract — Research on the well-being of dairy producers in Minas Gerais reveals pertinent insights into their daily lives. While the majority of participants report overall satisfaction with their lives, there are significant concerns regarding mental health and leisure time. Approximately 30% of respondents express some level of unhappiness related to mental health, underscoring an urgent need for support in this area. Regarding leisure time, only 20% indicate satisfaction, indicating a clear demand for reduced work hours.

Index terms: dairy farming, producer mental health, producer well-being health, rest and leisure time.

Introdução

Minas Gerais é o principal estado brasileiro na produção de leite, com um volume e 9,36 bilhões por ano, representando 27% do total nacional (IBGE, 2023). De acordo com o último Censo Agropecuário, o estado detinha um total de 216,5 mil produtores (Centro de Inteligência do Leite, 2022). No entanto, observa-se uma queda no número de produtores ao longo das últimas décadas, o qual, em relação ao ano de 2006 (Centro de Inteligência do Leite, 2022), apresentou uma queda de 174 mil produtores, incitando, assim, um melhor entendimento sobre eventuais causas dessa saída, além do aspecto econômico.

Em economia, o bem-estar, em seu conceito mais amplo, é um espelho de uma função de utilidade de um indivíduo. É fundamental o estudo de tal utilidade geral para discutir questões relacionadas ao fracasso e sucesso na atividade. Frey e Stutzer (2002, p. 1), afirmam que “há razões importantes para os economistas considerarem a investigação sobre a felicidade. A primeira é a política econômica.” A argumentação que decorre no artigo é a de que por meio do estudo da felicidade é possível rastrear necessidades de intervenção e auxiliar na tomada de decisão de políticas econômicas, sendo de extrema relevância para o aumento do bem estar geral.

Pode se afirmar que as variáveis analisadas no estudo (como saúde mental, tempo de descanso e relacionamentos pessoais) são essenciais para o desenvolvimento humano dos trabalhadores rurais, pois afetam questões como motivação, dedicação e felicidade geral no trabalho. Segundo a OMS, no relatório Geral da Saúde mental de 2022, pessoas mentalmente saudáveis apresentam maior produtividade, e regiões com maiores índices de felicidade geral apresentam maiores gerações de riquezas (World Health Organization, 2022). É nesse sentido no qual esse estudo se torna relevante no cenário da economia leiteira.

O objetivo desse trabalho é identificar e mensurar fatores que afetam o bem-estar dos produtores de leite, com foco em questões intrínsecas ao indivíduo como saúde física e mental, relacionamentos pessoais, tempo de descanso e lazer, entre outras informações. Com isso, espera-se auxiliar com questões importantes para eventuais políticas públicas decisões privadas, para criar um ambiente de melhor bem-estar aos trabalhadores da área.

O conteúdo desse documento 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 do ODS 10 - Reduzir a desigualdade dentro dos países e entre eles.

Material e métodos

Os dados foram obtidos por meio de uma pesquisa aplicada pela Embrapa Gado de Leite relacionada ao bem-estar do produtor de leite, conduzida entre os dias 25 de março de 2024 e 11 de abril do mesmo ano. A metodologia utilizada foi de questionários na plataforma Google Forms, no qual para cada pergunta o entrevistado deveria responder de acordo com o seu nível de satisfação correspondente, tendo como opções “completamente infeliz”, “infeliz”, “moderadamente feliz”, “feliz”, completamente feliz”.

Essa pesquisa foi anônima, aplicada via questionário online por meio da distribuição de link pelo aplicativo de mensagens Whatsapp, não sendo possível identificar os pecuaristas respondentes. Esse questionário inclui uma página de apresentação contendo todas as informações sobre a pesquisa em curso e seu responsável. Em conformidade com a Fiocruz

(Fundação Oswaldo Cruz, 2020), a enquete contempla, ainda, o Termo de Consentimento ("Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar."), avançando para a próxima etapa somente após a concordância expressa do entrevistado.

A parte da pesquisa que se presta a analisar as questões subjetivas do bem-estar do produtor conta com nove perguntas, as quais podem ser classificadas em duas categorias principais: em relação ao bem-estar do produtor e ao tempo de descanso e lazer. Além disso, uma parte inicial do questionário possibilita uma caracterização geral do produtor e da propriedade, como informações relacionadas a gênero, idade, produção de leite, entre outras questões. Posteriormente, os questionários passaram por uma análise em relação às respostas e ao nível de satisfação. Foi analisado quais das perguntas apresentavam maiores porcentagens de insatisfação em comparação com o todo, sendo possível, assim, demonstrar quais são as questões mais críticas ao entrevistado.

Resultados e discussão

Em relação ao bem-estar geral do produtor, cujo percentual das respostas está presente no Figura 1, pode-se observar a maioria de respostas positivas, principalmente sobre satisfação com a escolaridade, que apresenta 76,7% de completamente feliz. A respeito da família, observa-se que apenas 16% responderam como infeliz ou completamente infeliz, apresentando também um resultado positivo.

A fim de mensurar o nível de saúde dos entrevistados, foram feitas duas perguntas: uma sobre saúde física e outra saúde mental. Sobre esta última, apesar da maioria se considerar feliz ou completamente feliz, as respostas negativas somam cerca de 16% do total, demonstrando um percentual elevado que alerta para a necessidade de desenvolvimento de soluções para o problema da saúde mental no campo. Além da insatisfação, vale ressaltar que a pergunta apresenta o menor índice de satisfação da categoria, demonstrando que mesmo aqueles que não se consideram infelizes não estão satisfeitos por completo.

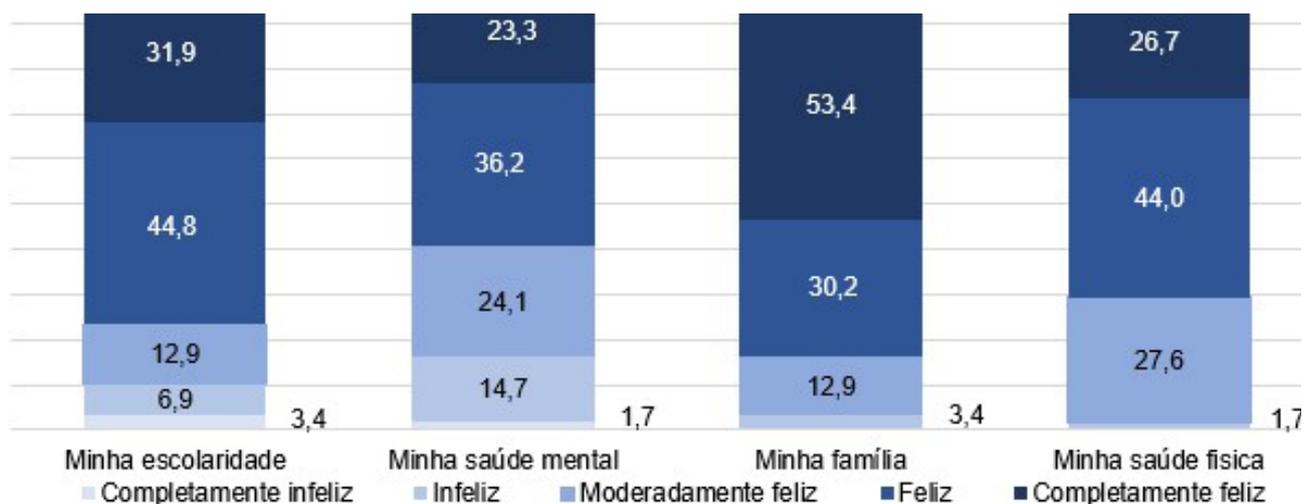


Figura 1. Bem estar do produtor (%).

A respeito da categoria vida social e lazer (Figura 2), observa-se uma abordagem sobre o tempo de descanso do produtor. Tal ponto é importante para a saúde e para o ganho de produtividade durante o trabalho.

No referido questionário, é observável uma insatisfação geral com o tempo destinado ao descanso. Apenas 20% do total consideram-se felizes ou completamente felizes, mostrando que a atividade leiteira vem exigindo muita dedicação dos produtores na forma como tem sido conduzida. Outro ponto dentro do tema é em relação ao uso do tempo de lazer, que também apresenta um baixo percentual de respostas positivas, com cerca de 40% de infelizes ou completamente infelizes. Outro indicador que confirma tal sobrecarga de trabalho são os índices de satisfação em relação ao equilíbrio entre trabalho e vida social, que seguem os mesmos padrões de respostas do restante da categoria, demonstrando uma baixa satisfação total nesse quesito. Portanto, observa-se uma maior demanda por diminuição na jornada de trabalho do produtor rural. Além disso, pode-se pensar em políticas para aumentar o nível de automação/mecanização na atividade.

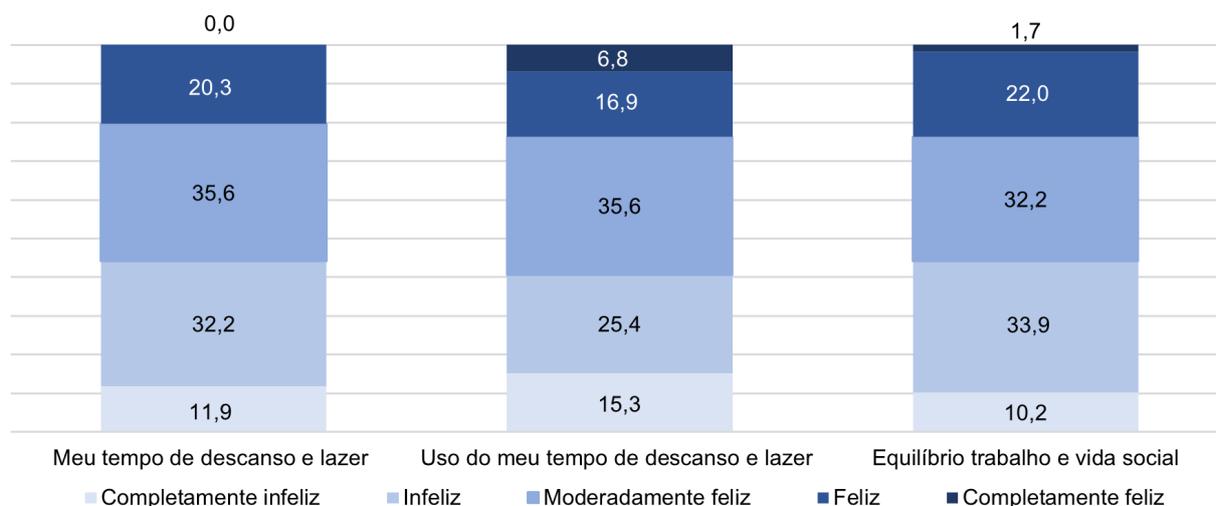


Figura 2. Vida social e lazer do produtor (%).

A categoria vida social e lazer apresenta resultados preocupantes. Grande parte se manifesta como moderadamente feliz; por outro lado, a porcentagem de insatisfeitos supera a de satisfeitos em todos os casos analisados.

Conclusões

Como conclusão, pode se observar uma diferença de satisfação entre os temas das duas categorias. No qual quando se diz a respeito do bem-estar geral do produtor existe uma maioria saudável e satisfeita com seu cotidiano, porém, ainda existe uma demanda para melhores condições, principalmente no âmbito de saúde mental e tempo de descanso.

Porém, quando é analisado a categoria de vida social e lazer, fica evidente que uma parcela considerável dos produtores alega a necessidade de maior tempo de descanso. Tal sobrecarga de trabalho é evidenciada pelas altas porcentagens de infeliz e completamente infeliz quando questionados a respeito do tempo de lazer e descanso, padrão esse que também se repete quando questionado sobre o uso desse tempo.

Agradecimentos

À Embrapa Gado de Leite e FAPED pela oportunidade da bolsa de estágio. Ao pesquisador Glauco Rodrigues Carvalho pelo acompanhamento, orientação e apoio. À Fapemig pelo suporte financeiro no projeto APQ-00781-17.

Referências

CENTRO DE INTELIGÊNCIA LEITE. **Leite em números - Produtores**. Juiz de Fora, 2022. Disponível em: https://www.cileite.com.br/leite_numeros_produtores. Acesso em: 11 jul. 2024.

FREY, B. S.; STUTZER, A. What can economists learn from happiness research? **Journal of Economic Literature**, v. 40, p. 402-435, 2002. Disponível em: <https://edoc.unibas.ch/20762/1/002205102320161320.pdf>. Acesso em: 12 jul. 2024.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **Orientações do CEP/ENSP para a apresentação e consentimento em pesquisas que serão realizadas online/ambiente virtual**. Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: https://cep.ensp.fiocruz.br/sites/default/files/instrutivo_para_consentimento_em_pesquisas_online_julho_2020.docx. Acesso em: 12 jul. 2024.

IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA. **Pesquisa da Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro, 2023. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/ppm/quadros/brasil/2022>. Acesso em: 11 jul. 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World mental health report: transforming mental health for all**. Geneva, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/teams/mental-health-and-substance-use/world-mental-health-report>. Acesso em: 11 jul. 2024.

Características da biomassa e da silagem de genótipos de capim-elefante visando à produção de biogás

Felipe Ferreira Coelho^{(1) (5)}, Guilherme Henrique da Silva⁽²⁾, Marcelo Henrique Otenio⁽³⁾, Jailton da Costa Carneiro⁽³⁾, Inácio de Barros⁽³⁾ e Juarez Campolina Machado^(3,4)

⁽¹⁾ Bolsista (Pibic/Fapemig), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora. ⁽²⁾ Estudante de pós-graduação, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. ⁽³⁾ Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾ Orientador. ⁽⁵⁾ E-mail: ferreira.felipe@engenharia.ufjf.br.

Resumo — O capim-elefante é uma forrageira promissora para a produção de bioenergia, pelo seu rápido crescimento e elevada produção de biomassa, sendo rico em celulose, hemicelulose e lignina. Técnicas de ensilagem estão sendo aplicadas como estratégia para sua conservação, proporcionando uma fermentação adequada e utilização do material para a digestão anaeróbia. Neste contexto, o presente estudo avaliou a biomassa fresca e ensilada de sete genótipos de capim-elefante visando à produção de biogás. Foram realizadas análise de componentes principais e análise discriminante para avaliar as características da biomassa e da silagem no universo multivariado. A ensilagem resultou em baixa degradação das biomassas, com valores de pH e matéria seca próximos aos padrões recomendados, indicando o potencial da silagem de capim-elefante como substrato para a produção de biogás por meio da codigestão anaeróbia.

Termos para indexação: digestibilidade lignocelulósica, bioenergia, *cenchrus purpureus*, fermentação anaeróbia, tecnologia de ensilagem.

Characteristics of biomass and silage of elephant grass genotypes aimed at biogas production

Abstract — Elephant grass is promising forage for bioenergy production due to its rapid growth and high biomass yield, being rich in cellulose, hemicellulose, and lignin. Silage techniques are being applied as a strategy for its preservation, ensuring adequate fermentation and subsequent application of the material for anaerobic digestion. In this context, the present study evaluated the fresh and ensiled biomass of seven genotypes of elephant grass with the aim of biogas production. Principal component analysis and discriminant analysis were conducted to assess the characteristics of the biomass and silage in a multivariate context. The results showed that silage resulted in low degradation of the biomass, with pH and dry matter values close to the recommended standards, indicating the potential of elephant grass silage as a substrate for biogas production through anaerobic co-digestion.

Index terms: lignocellulosic digestibility, bioenergy, *cenchrus purpureus*, anaerobic fermentation, ensiling technology.

Introdução

A silagem é uma técnica de armazenamento de materiais vegetais frescos em condições anaeróbias que proporciona a preservação das características físico-químicas da biomassa ao longo do tempo, minimizando perdas e conservando nutrientes e energia do material (Queiroz et al., 2018). A ensilagem de culturas vegetais é uma estratégia eficaz e prática, amplamente explorada por produtores rurais, o que facilita as operações no campo e permite o armazenamento do material com boa qualidade por um longo período de tempo, além de assegurar sua disponibilidade em diferentes épocas e condições climáticas. A biomassa ensilada pode ser utilizada para produção de bioenergia, servindo como substrato em processos de digestão anaeróbia. Vale destacar que a digestão anaeróbia de culturas energéticas é uma abordagem promissora para a produção de biogás, visando geração de energia limpa, que contribui para reduzir os impactos causados pelo uso de combustíveis fósseis (Song et al., 2023).

Entre as diferentes biomassas vegetais, o capim-elefante se destaca por apresentar alta produtividade de massas verde e seca e elevado teor energético, tornando-o proeminente para a produção de biogás, com resultados de rendimento metanogênico entre 218 L.kgSV⁻¹ e 311 L.kgSV⁻¹ (Song et al., 2023). A produtividade de biogás e metano é influenciada por diversos fatores, como a biodegradabilidade do substrato, a época do ano em que é feita a coleta e a idade da planta (Martins et al., 2020). Além disso, a composição físico-química da silagem pode variar significativamente entre diferentes genótipos de capim-elefante, influenciando diretamente o potencial de produção de biogás.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a biomassa e a silagem de sete genótipos de capim-elefante (T_HE10, T_47.1, T_23.2, T_41.2, T_51.5, T_23.1 e BRS Capiaçú) quanto às características físico-químicas, com foco na utilização dos genótipos para a produção de biogás.

O conteúdo desse documento 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 do ODS 7 – “Energias renováveis: Garantir acesso à energia barata, confiável, sustentável e renovável para todos”.

Material e métodos

O experimento foi conduzido no Campo Experimental José Henrique Bruschi, em Coronel Pacheco, MG. Foram avaliados sete genótipos do Programa de Melhoramento de Capim-elefante da Embrapa, que foram coletados aos 110 dias após o plantio. O material foi pesado, determinado a produtividade de matéria verde (PMV) de cada genótipo, e depois, picado em um picador forrageiro em pedaços de cerca de 2 cm para montagem dos silos. O delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados, com três repetições.

Foram preparadas amostras de capim picado, levadas à pré-secagem em estufa a 55 °C. Em seguida, as amostras foram moídas em moinho tipo Willey e encaminhadas para análises laboratoriais para estimar os teores de matéria seca (MS), teores de sólidos totais (ASE), de cinzas (CZ), energia bruta (EB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS) pelo método da Espectroscopia do Infravermelho Próximo (“*NIRS - Near Infrared Spectroscopy*”). Os teores de celulose e hemicelulose foram calculados pela subtração entre FDA e lignina, e entre FDN e FDA, respectivamente. A produtividade de matéria seca (PMS) foi calculada com base na PMV e nos teores de matéria seca.

Cada mini silo de PVC, com 10 cm de diâmetro e 30 cm de altura, foi preenchido com aproximadamente 1400 g de capim picado. Os mini silos foram preparados em triplicata para cada uma das 21 parcelas de campo. Foram feitas as pesagens das amostras, dos silos vazios e, em seguida, dos silos cheios usando-se uma balança digital. Os mini silos foram abertos 163 dias após a ensilagem. Antes da abertura, foram pesados para determinar a diferença entre o peso inicial e o peso final, e calcularam-se as perdas devido à fermentação da silagem. Após a abertura dos silos, a silagem foi prensada em uma prensa mecânica. O caldo extraído passou por análises de pH e Brix, para determinar a concentração de açúcares fermentáveis. Amostras de silagem foram levadas à secagem em estufa a 55 °C para determinar a matéria seca (MS).

Os dados foram submetidos à análise de componentes principais, pelo método de Pearson e Hotteling ($p < 0,05$) e à análise discriminante ($p < 0,10$).

Resultados e discussão

Inicialmente, foi realizada a caracterização da biomassa dos genótipos de capim-elefante. Os teores médios de hemicelulose, celulose e lignina foram de 29,5%, 39,4% e 7,79%, respectivamente. A FDN, FDA e DIVMS e os teores de cinzas apresentaram médias de 76,7%, 47,2%, 42,4% e 6,36%, respectivamente. Esses resultados se assemelham aos obtidos por Martins et al. (2020) para o capim-elefante colhido aos 112 dias de crescimento. Os valores de EB dos genótipos estudados foram, em média, de 4.224,71 Kcal.kg⁻¹, representando potencial para produção de energia via combustão direta. Valores semelhantes também foram relatados por Marafon et al. (2016), que encontraram EB entre 4.209 Kcal.kg⁻¹ e 4.400 Kcal.kg⁻¹ na avaliação de 18 genótipos de capim-elefante. A PMS média dos genótipos de capim-elefante analisados foi estimada em 39,0 t.ha⁻¹.ano⁻¹, valores próximos aos relatados por Marafon et al. (2016), comprovando a alta produtividade de biomassa seca da espécie.

A partir da identificação dos componentes principais das características físico-químicas da silagem, foram analisadas as variáveis mais representativas, conforme a Figura 1, em anexo. Observou-se que o pH e a densidade de matéria natural apresentaram correlação positiva significativa entre si, porém negativa significativa com o Brix do caldo da silagem dos genótipos de capim-elefante. O pH dos genótipos variou de 3,8 a 4,7, enquanto o Brix, de 3,2 a 3,5. A densidade da matéria natural também se apresentou inversamente proporcional aos teores de MS do capim-elefante antes da ensilagem. Isso pode estar relacionado ao fato de que genótipos com maiores teores de MS estão associados à dificuldade no processo de compactação. De acordo com Tomich et al. (2003), os valores de MS recomendados para uma boa fermentação da silagem variam entre 25 e 35%, sendo que valores abaixo dessa faixa podem representar altos teores de umidade, o que dificulta a queda do pH durante o processo fermentativo e favorece o crescimento de microrganismos indesejados, como os clostrídios.

A faixa de pH ideal para obtenção de uma silagem de boa qualidade é entre 3,8 e 4,2, favorecendo a fermentação e a conservação das características físico-químicas da biomassa. O pH é um parâmetro decisivo para o bom desempenho de processos anaeróbios. Nesse contexto, surge como alternativa o uso da silagem como substrato em codigestão para melhorar a estabilidade do processo. A codigestão com dejetos bovinos, por exemplo, possibilita que o material alcance valores de pH dentro da faixa recomendada (6,5 a 7,5) e o equilíbrio da relação C/N para a digestão anaeróbia adequada (Kunz et al., 2019).

A partir da análise discriminante dos genótipos de capim-elefante, realizada com base na Figura 2, em anexo, observou-se que alguns genótipos de capim-elefante apresentaram

características semelhantes, como é o caso dos genótipos T_23.1 e T_41.2, e entre os T_51.5 e T_47.1. Sob uma perspectiva mais abrangente, o genótipo T_HE10 se destacou como o mais distinto em relação aos demais, especialmente quando comparado ao T_23.2. O T_HE10 destaca-se por apresentar teores de MS mais elevados do que os demais, tanto antes de ensilar, quanto na abertura dos silos, além de apresentar um alto valor médio de quantidade de MS ensilada. O genótipo T_23.2 apresentou baixos teores de MS, em ambos os momentos analisados, assim como de pH e Brix. Embora o T_HE10 tenha apresentado teores de MS mais elevados que os demais, fator que favorece a ensilagem por reduzir a umidade e a perda de efluentes, o valor médio de pH de 4,75 encontrou-se acima do recomendado por Tomich et al. (2003) para uma silagem de qualidade. Os demais genótipos apresentaram-se dentro dos padrões qualitativos estabelecidos, indicando a viabilidade da utilização de suas silagens para a produção de biogás, em processos de digestão anaeróbia.

Conclusões

Os genótipos de capim-elefante analisados apresentaram características de biomassa e silagem propícias à aplicação para a produção de biogás, especialmente em processos de co-digestão anaeróbia, em associação a outros substratos de interesse, como dejetos de bovinos ou de suínos, que são co-substratos que fornecem características elementares complementares, proporcionando o equilíbrio da biomassa e a estabilidade da biodigestão anaeróbia.

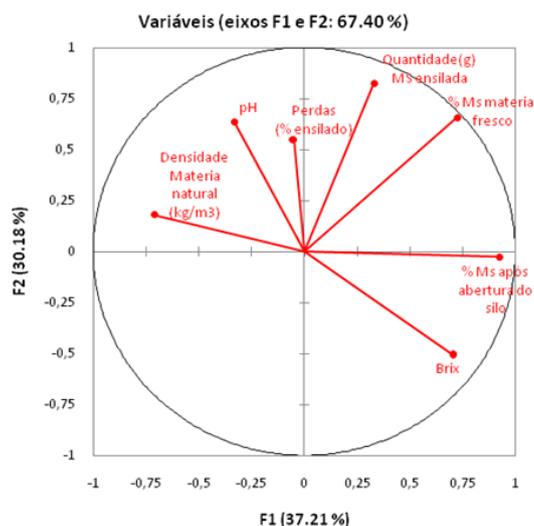


Figura 1. Análise de componentes principais para características físico-químicas da silagem de genótipos de capim-elefante.

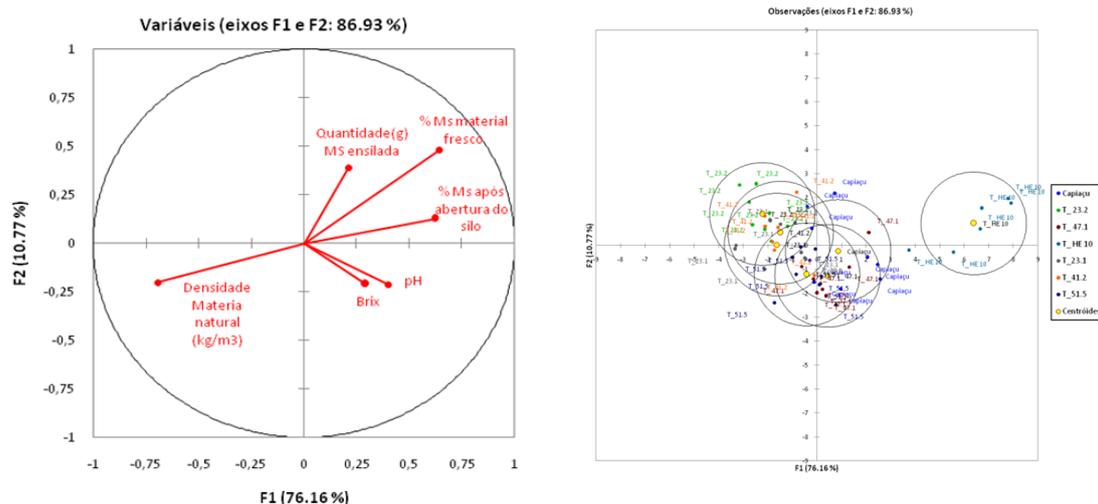


Figura 2. Análise Discriminante pelo método do centróide de características físico-químicas das silagens de genótipos de capim-elefante.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), e aos órgãos de fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Brasil e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig).

Referências

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 24th ed. Washington, 2022.

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.

QUEIROZ, O. C. M.; OGUNADE, I. M.; WEINBERG, Z. Silage review: foodborne pathogens in silage and their mitigation by silage additives. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 4132-4142, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13901>.

MARAFON, A. C.; SANTIAGO, A. D.; AMARAL, A. F. C.; BIERHALS, A. N.; PAIVA, H. L.; GUIMARÃES, V. dos S. **Poder calorífico do capim-elefante para a geração de energia térmica**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2016. 28 p. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 115).

MARTINS, L. F.; PRADO, D. M. B.; GOMES, G. R.; TEIXEIRA, A. M.; OLIVEIRA, L. N.; GONÇALVES, L. C.; OLIVEIRA, F. S. Valor nutricional do capim-elefante verde colhido em diferentes idades de rebrota. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, n. 5, p. 935-942, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-11329>.

TOMICH, T. R.; PEREIRA, L. G. R.; GONÇALVES, L. C.; TOMICH, R. G. P.; BORGES, I. **Características químicas para avaliação do processo fermentativo de silagens**: uma proposta para qualificação da fermentação. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003. 20 p. (Embrapa Pantanal. Documentos, 57).

WILLIAMS, P.; NORRIS, K. (ed.). **Near-infrared technology in the agricultural and food industries**. 2nd ed. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists, 2001.

SONG, Y.; PEI, L.; CHEN, G.; MU, L.; YAN, B.; LI, H.; ZHOU, T. Recent advancements in strategies to improve anaerobic digestion of perennial energy grasses for enhanced methane production. **Science of the Total Environment**, v. 861, 160552, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160552>.

Avaliação da prevalência de endometrite citológica no pós-parto de vacas leiteiras alojadas em sistemas *Compost barn*

Milena Carvalho Coelho⁽¹⁾⁽⁴⁾, Marcilene Daniel Damasceno⁽²⁾, Pedro Felipe Rodrigues e Oliveira⁽²⁾, Alessandro de Sá Guimarães⁽³⁾, Bruno Campos Carvalho⁽³⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/CNPq.), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Estudante de pós-graduação, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. ⁽³⁾Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾E-mail: milenacarvalhocoelho111@gmail.com.

Resumo — Objetivou-se avaliar a prevalência de endometrite citológica no pós-parto de vacas alojadas nesse sistema. Foram coletadas amostras endometriais pela técnica de *cytobrush* de 314 vacas das raças Holandesa e Girolando de 01 dia a 42 dias pós-parto, em 20 fazendas nos Estados de Minas Gerais e Goiás. Lâminas foram coradas em laboratório pelo método de panóptico rápido e a contadas pelo menos 300 células em microscopia de imersão e consideradas como positivas para endometrite citológica aquelas amostras com mais de 6% de neutrófilos. Os dados foram submetidos à análise de dispersão de frequência pelo teste exato de Fisher ($P < 0,05$), utilizando o programa estatístico SAS, v.9.2. A prevalência de endometrite citológica foi de 26,82% (81/302). Não foi observado efeito de raça na endometrite citológica ($p > 0,05$). Observou-se maior prevalência de endometrite citológica nas primíparas, de 33,04% (38/115), em relação às vacas múltíparas, que foi 20,00% (36/180). Vacas com histórico relatado de retenção de placenta tiveram 55% (11/20) de endometrite citológica, maior do os 24,72% (67/271) observado para vacas sem histórico de retenção de placenta. Durante o pós-parto, observou-se efeito de semana, com as maiores prevalências ocorrendo na segunda e terceira semana pós-parto.

Termos para indexação: Girolando, infecção uterina, metrite puerperal, retenção de placenta.

Prevalence of cytological endometritis in the postpartum period of dairy cows in *Compost barn* systems

Abstract — It was aimed aimed to evaluate the prevalence of cytological endometritis in the postpartum period of cows housed in this system. Endometrial samples were collected using the *cytobrush* technique from 314 Holstein and Girolando cows between 1 and 42 days postpartum, across 20 farms in the states of Minas Gerais and Goiás. Slides were stained in the laboratory using the rapid panoptic method, 300 cells were counted under immersion microscopy and samples having more than 6% neutrophils considered positive for cytological endometritis. Prevalence data were analyzed using Fisher's exact test ($p < 0.05$), utilizing the SAS, version 9.2. Of the 314 slides, 12 were discarded due to insufficient cell count. The prevalence of cytological endometritis was 26.82% (81/302). No breed effect on cytological endometritis was observed. A higher prevalence of cytological endometritis was observed in primiparous cows (33.04%, 38/115) compared to multiparous cows (20.00%, 36/180). Cows with reported retained placenta had a 55% (11/20) prevalence of cytological endometritis, significantly higher than the 24.72% (67/271) observed in cows without retained placenta. During the postpartum period, a significant effect of the week was observed, with the highest prevalence occurring in the second and third postpartum weeks.

Index terms: Girolando, uterine infection, puerperal metritis, retained placenta.

Introdução

Sistemas de confinamento do tipo *Compost Barn* foram implantados pela primeira vez no Brasil em fevereiro de 2012 e desde então seu uso vem se expandindo rapidamente (Serpa, 2022). Apesar dessa expansão, aspectos de saúde reprodutiva de vacas alojadas em *Compost Barn* ainda precisam ser mais bem estudados. A doença uterina é uma das principais afecções no pós-parto de vacas leiteiras, com impacto na fertilidade e produtividade. Apesar de diferentes manifestações das doenças uterinas, uma técnica que tem sido utilizada para a detecção de inflamação uterina é a citologia endometrial, feita a partir da identificação e contagem das células polimorfonucleares (PMN, neutrófilos) (McDougall et al., 2020). Pontos de corte ótimos para estabelecer a endometrite citológica têm variado de 2 a 18% (McDougall et al., 2011, 2020; Barański et al., 2012). Visto que os PMN são o principal mecanismo de defesa do útero e estão relacionados com a sua involução, a citologia endometrial tem se tornado técnica de escolha para muitos pesquisadores para o diagnóstico de inflamação uterina. Isso se deve ao fato de a citologia endometrial ser um melhor preditor do desempenho reprodutivo do que a bacteriologia intrauterina ou o escore da descarga vaginal purulenta. Outra vantagem da técnica é sua baixa invasividade e alta sensibilidade. O objetivo do presente estudo foi avaliar a prevalência de endometrite citológica (EC) em vacas alojadas em sistemas *Compost Barn* no pré e pós-parto.

O conteúdo desse documento 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 do 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

As atividades experimentais foram aprovadas pela CEUA da Embrapa Gado de Leite (CEUA/CNPGL 8308220322). Foram avaliadas 20 fazendas nos Estados de Minas Gerais e Goiás e todas as fazendas possuíam sistema *Compost barn* para o alojamento das vacas no pré e pós-parto. Em cada fazenda, foram amostradas todas as vacas em lactação entre 1 (um) e 42 dias pós-parto, sem histórico de tratamento com antibiótico nos últimos 10 dias. Dados de data do parto, dias em lactação, ordem de parto, raça, produção de leite, ocorrência de metrite, aborto e retenção de placenta também foram coletados. As vacas foram contidas em brete ou corredor de manejo e, após higienização perineal, foram coletadas amostras uterinas utilizando aplicador de sêmen de aço inoxidável adaptado a uma escova citológica (Kolplast, Brasil) envolto em uma bainha de inseminação (WTA, Brasil). A escova citológica foi rolada sobre lâmina de vidro, seca ao ar e corada pelo método do panóptico rápido. A leitura foi realizada com auxílio de microscópio (Leica, Alemanha), sob imersão em óleo (1000x). Foram contadas pelo menos 300 células, com a identificação de células epiteliais, neutrófilos (polimorfonucleares) e outros tipos celulares (linfócitos e macrófagos). Foram consideradas como positivas para endometrite citológicas aquelas amostras com mais de 6% de neutrófilos. Os dados zootécnicos de raça (Girolando ou Holandesa), ordem de parto (primípara ou múltipara), semana pós-parto, ocorrências de metrite e retenção de placenta foram tabulados e as frequências de endometrite citológica. Os dados foram submetidos à análise de dispersão de frequência pelo teste exato de Fisher ($P < 0,05$), considerando os efeitos de raça, ordem de parto, semana pós-parto, ocorrência de retenção de placenta e ocorrência de metrite utilizando o programa estatístico SAS, v.9.2.

Resultados e discussão

Um total de 314 vacas foram submetidas a citologia endometrial. Entretanto, 12 lâminas foram descartadas por ausência de células suficientes. A prevalência de endometrite citológica foi de 26,82% (81/302), sem diferença significativa ($p > 0,05$) entre as raças Girolando e Holandesa. Vacas primíparas apresentaram 33,04% (38/115) de endometrite citológica, maior ($p = 0,0117$) do que a prevalência de 20,00% (36/180) observada nas múltíparas. Vacas com histórico de ocorrência de retenção tiveram 55% (11/20) de endometrite citológica, maior ($p = 0,0032$) que os 24,72% (67/271) observados para vacas sem histórico de retenção de placenta. Esse resultado está de acordo com o observado por McDougall et.al. (2011), em que a retenção de placenta favoreceu infecções e doenças uterinas. Vacas que apresentaram metrite clínica tiveram prevalência de endometrite citológica de 51,85% (14/27), maior ($p = 0,0024$) do que a prevalência das vacas que não apresentaram metrite, que foi 24,62% (65/264). Apesar de ser um resultado esperado, uma maior endometrite citológica em vacas que tiveram um diagnóstico clínico de infecção uterina, chama a atenção que 24,62% das vacas sem diagnóstico clínico de doença uterina, foram diagnosticadas na citologia, o que reforça a importância da técnica como método diagnóstico. A prevalência de endometrite citológica diferiu ($p < 0,0001$) em relação à semana pós-parto. As maiores prevalências foram observadas entre a segunda e terceira semana pós-parto (Figura 1).

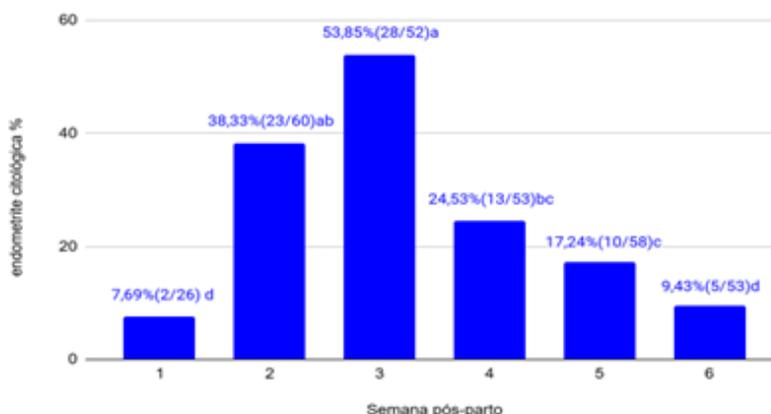


Figura 1. Prevalência de endometrite citológica em vacas alojadas em sistemas *compost barn* em função da semana pós-parto.

^{a, b} Porcentagens, seguidas de letras distintas, diferem pelo teste exato de Fisher ($p < 0,05$).

Conclusões

A prevalência de endometrite citológica em sistemas *Compost barn* foi 26,82%, sendo afetada pela ordem de parto, histórico de ocorrência de retenção de placenta e metrite e pela semana pós-parto.

Agradecimentos

Ao apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Brasil. Fapemig APQ-00665-22 e Embrapa SEG SEG 10.23.00.112.00.00.

Referências

BARAŃSKI, W.; JANOWSKI, T.; PODHALICZ-DZIĘGIELEWSKA, M.; ZDUŃCZYK, S. The diagnosis and prevalence of subclinical endometritis in cows evaluated by different cytologic thresholds. *Theriogenology*, v. 78, n. 9, p. 1939-1947, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.07.018>.

MCDUGALL, S.; ABERDEIN, D.; BUCKLE, K.; BURKE, C.; HUSSEIN, H.; MEIER, S.; MITCHELL, M.; ROCHE, J. Relationships between cytology, bacteriology and vaginal discharge scores and reproductive performance in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 76, n. 2, p. 229-240, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.12.024>.

MCDUGALL, S.; ABERDEIN, D.; BATES, A.; BURKE, C. R. Prevalence of endometritis diagnosed by vaginal discharge scoring or uterine cytology in dairy cows and herds. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 7, p. 6511-6521, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2019-18048>.

SERPA, M. 10 anos de Compost Barn no Brasil: história, mudanças e mercado. **MilkPoint**, 15 mar. 2022. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/artigos/producao-de-leite/10-anos-de-compost-barn-no-brasil-historia-mudancas-e-mercado-229333/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

Adição de fator estimulador de colônias 2 (CSF2) ao meio de cultivo embrionário na presença ou ausência de soro e efeitos sobre o desenvolvimento embrionário e características neonatais da progênie

André Lopes Cirino⁽¹⁾⁽⁴⁾, João Gabriel Viana de Grazia⁽²⁾, Luany Alves Galvão Martinhão⁽²⁾, Luiz Sérgio Almeida Camargo⁽³⁾, Luiz Gustavo Bruno Siqueira⁽³⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/CNPq.), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Técnico, Apoyar Biotech Ltda, Alta Floresta, MT. ⁽³⁾Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾E-mail: andre.lopes@estudante.ufjf.br.

Resumo — O estabelecimento e a manutenção da gestação em bovinos de leite e corte tem grande impacto sobre a eficiência reprodutiva dos rebanhos e sustentabilidade produtiva e econômica. A ocorrência de perdas gestacionais, por sua vez, representa altos custos e prejuízo financeiro, além de comprometer a produtividade das fazendas. Neste contexto, as causas multifatoriais que levam a perdas embrionárias e fetais devem ser foco de atenção e, assim, estudos têm demonstrado quais os principais fatores de risco envolvidos, incluindo o uso de tecnologia de reprodução assistida (ART). No caso da produção in vitro de embriões, melhorias nos sistemas de cultivo podem ser promissoras para que sejam produzidos embriões de melhor qualidade, que não apenas produzam uma prenhez, mas que sejam capazes de levar a gestação a termo, com o nascimento de bezerros saudáveis. O fator estimulador de colônias 2 (CSF2) é uma citocina secretada pelo endométrio alguns dias após a ovulação em bovinos. Esta citocina pode ter papel importante na programação do desenvolvimento embrionário inicial, com reflexos na vida pós-natal da prole. O objetivo deste estudo foi investigar se a suplementação com CSF2 do quinto dia ao sétimo dia de cultivo embrionário, em meio com ou sem soro, afeta o desenvolvimento embrionário inicial, a duração da gestação, e características dos neonatos.

Termos para indexação: programação fetal, embrião in vitro, gestação.

Addition of colony-stimulating factor 2 (CSF2) to embryo culture medium with or without serum and the effects on embryonic development and neonatal features of the progenie)

Abstract — Pregnancy establishment and maintenance in dairy and beef cattle have a great impact on herd reproductive efficiency and sustainability of livestock systems. The occurrence of pregnancy losses represents a high financial cost for farms. In this context, multifactorial causes of pregnancy and fetal losses have been a reason for concern, particularly if assisted reproductive technologies (ART) are used. In the case of in vitro embryo production, improvements in culture conditions may be important to produce embryos of better quality that will not only result in a pregnancy, but also in the birth of a viable calf. Colony-stimulating factor 2 (CSF) is a maternally-derived cytokine produced by the endometrium a few days after ovulation in cattle and is likely to play a role in programming early embryo development and cause effects on fetal development with reflects on postnatal features of the resultant calf. The objective of this study was to investigate whether supplementation with CSF2 during embryo culture, with or without serum, affect early embryonic development, gestation length, and neonatal features of calves.

Index terms: fetal programming, in vitro embryo, pregnancy.

Introdução

O embrião pré-implantação é sensível à estímulos vindos do microambiente no qual se encontra e pode modificar a sua função em resposta ao ambiente artificial de cultivo *in vitro*. Eventos celulares e moleculares importantes para o desenvolvimento subsequente acontecem neste período, entres eles a reprogramação epigenética (desmetilação e metilação de novo; Santos; Dean, 2004), diferenciação da massa celular interna que dará origem aos folhetos embrionários e diferenciação dos tecidos extra-embriônicos (placentação). Esse conjunto de eventos, incluindo possíveis alterações, adaptações ao microambiente, e modificações celulares e moleculares é chamado de programação do desenvolvimento embrionário e/ou fetal.

O uso da PIVE (Produção *in vitro* de embriões) tem grande importância para o Brasil, país que se destaca como o segundo maior produtor global de embriões *in vitro* (Viana, 2023), para o melhoramento genético e para a multiplicação de animais superiores. Contudo, há relatos recorrentes de elevadas taxas de perdas embrionárias, desenvolvimento fetal anormal, e alterações da placenta e anexos em humanos e animais (Wagtendonk-de Leeuw et al., 1998; Wang et al., 2004; Farin et al., 2006). No caso específico da PIVE, a maior incidência de perdas embrionárias está associada à ocorrência de aneuploidia/mixoploidia (Viuff et al., 1999), reprogramação epigenética anormal (Chen et al., 2015), erros na diferenciação celular, alongamento do conceito, implantação e placentação (Speckhart et al., 2023), função placentária anormal (Grazul-Bilska et al., 2010) e desenvolvimento fetal alterado (Bertolini et al., 2002; Bloise et al., 2014).

Evidências indicam ainda que as consequências podem persistir até a vida adulta, o que impacta também os programas de melhoramento genético, em função das possíveis alterações fenotípicas. Assim, o desenvolvimento de estratégias de mitigação dos efeitos adversos da PIVE sobre o desenvolvimento fetal e perdas gestacionais, como avanços nas técnicas de cultivo *in vitro*, podem contribuir para a maior eficiência da técnica. Neste contexto, a adição de moléculas de origem materna aos meios de cultivo tem potencial de mitigar anormalidades embrionárias e fetais (Denicol; Siqueira, 2023). O fator estimulador de colônias 2 (CSF2) é uma citocina secretada pelo endométrio alguns dias após a ovulação em bovinos (Hansen et al., 2014). Esta citocina pode ter papel importante na programação do desenvolvimento embrionário inicial (Siqueira et al., 2017), com reflexos na vida pós-natal da prole (Amaral et al., 2022). Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da adição de CSF2 ao meio de cultivo embrionário sobre o desenvolvimento inicial e as características pós-natais dos bezerros nascidos após a transferência de embriões PIVE.

O conteúdo desse documento 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 do 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

Embriões foram produzidos *in vitro* utilizando os procedimentos de rotina de um laboratório comercial (Apoyar Biotech Ltda., Alta Floresta, MT). Complexos cumulus-oócitos (CCO) coletados de ovários de matadouro foram maturados *in vitro* por 22 horas a 24 horas e fertilizados com sêmen sexado de macho de um único touro da raça Nelore de fertilidade comprovada. O cultivo embrionário foi realizado em meio com ou sem soro fetal bovino

(SFB), em atmosfera de 5% CO₂ e 5,5% O₂. No quinto dia de cultivo, os zigotos foram alocados aleatoriamente para serem tratados com veículo (Controle) ou 10 ng/mL de CSF2 bovino recombinante (Kingfisher Biotech, Inc., Saint Paul, MN, USA), formando um arranjo de tratamentos fatorial 2 x 2: Controle (0% SFB, veículo); Controle-CSF2 (0% SFB, 10 ng/mL CSF2); SFB (3% SFB, veículo); e SFB-CSF2 (3% SFB, 10 ng/mL CSF2). Receptoras (n= 132) foram sincronizadas utilizando protocolo de Transferência de embrião em tempo fixo (TETF) baseado em progesterona e estradiol e, no sétimo dia do ciclo, as receptoras aptas (presença de CL > 2 cm²) receberam um embrião de um dos quatro tratamentos, que foram distribuídos aleatoriamente entre as receptoras aptas no dia da transferência. O diagnóstico de gestação foi realizado aos 26 dias após a transferência do embrião (dia 33 da gestação) com base na presença de um embrião com batimento cardíaco. O comprimento do embrião (CRL) foi mensurado durante este exame. Ao nascimento, os bezerros machos (n= 31) foram pesados e o diâmetro do cordão umbilical foi medido, além do cálculo da duração da gestação. A análise estatística foi realizada utilizando o Proc GLM do software SAS para avaliar os efeitos de tratamento sobre CRL, duração da gestação, peso ao nascimento e diâmetro do cordão umbilical.

Resultados e discussão

As taxas de gestação aos 33 dias de prenhez não diferiram entre tratamentos (37,0%; 30,8%; 44,9%; e 33,3% para Controle, Controle-CSF2, SFB, e SFB-CSF2, respectivamente; P= 0,23). Não foi observado efeito de tratamento sobre o CRL no dia 33 da gestação (1,09 ± 0,06; 1,08 ± 0,06; 1,04 ± 0,05; 1,08 ± 0,06; para Controle, Controle-CSF2, SFB, e SFB-CSF2, respectivamente; P=0,92), nem sobre duração da gestação (298,2 ± 2,7; 300,0 ± 2,3; 297,4 ± 1,8; 302,0 ± 2,2; para Controle, Controle-CSF2, SFB, e SFB-CSF2, respectivamente; P= 0,43), peso ao nascer (45,5 ± 2,9; 41,1 ± 2,4; 40,7 ± 1,9; 45,9 ± 2,3; para Controle, Controle-CSF2, SFB, e SFB-CSF2, respectivamente; P= 0,25) ou diâmetro do cordão umbilical (1,36 ± 0,2; 1,66 ± 0,2; 1,61 ± 0,1; 1,77 ± 0,2; para Controle, Controle-CSF2, SFB, e SFB-CSF2, respectivamente; P= 0,54). Contrastes ortogonais entre os tratamentos com SFB ou sem (SFB e SFB-CSF2 vs Controle e Controle-CSF2) e CSF2 ou não (Controle-CSF2 e SFB-CSF2 vs Controle e SFB) não detectaram efeito sobre as variáveis estudadas. Foi observada uma tendência (P= 0,09) para maior peso ao nascer no grupo SFB-CSF2 comparado ao SFB (45,8 ± 2,3 vs 40,7 ± 1,9; respectivamente).

Os resultados corroboram parcialmente com aqueles obtidos em estudo anterior no qual se demonstrou que os efeitos do CSF2 sobre bezerros nascidos dependem da presença de soro no meio de cultivo (Amaral et al., 2022). Contudo, não foram observadas evidências de que o CSF2 exerça efeitos importantes sobre a prenhez, como detalhado em meta-análise recente (Hansen et al., 2024). Estudos futuros podem investigar a ocorrência de perdas embrionárias em prenhez de embriões tratados com CSF2 cultivados em meio com ou sem a presença de soro.

Conclusões

Conclui-se que a adição de CSF2 do dia 5 ao 7 do cultivo in vitro de embriões não afeta aspectos relacionados à prenhez e às características neonatais de bezerros machos da raça Nelore, exceto na presença de soro no meio que leva a uma tendência de maior peso ao nascimento em embriões tratados com CSF2.

Agradecimentos

Ao apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Brasil, Fapemig (Projeto APQ-02126-21), Embrapa (Projeto SEG 10.22.00.159.00.00) e INCT Reprodução Animal (Processo CNPq 406866/2022-8). À Embrapa Gado de Leite pela oportunidade da bolsa recebida do Programa PIBIC, o que nos proporcionou obter experiência e aprendizado; ao pesquisador Luiz Gustavo Bruno Siqueira pelo acompanhamento, orientação e apoio durante o período de estudos e treinamento.

Referências

- AMARAL, T. F.; GRAZIA, J. G. V. de; MARTINHAO, L. A. G.; DE COL, F.; SIQUEIRA, L. G. B.; VIANA, J. H. M.; HANSEN, P. J. Actions of CSF2 and DKK1 on bovine embryo development and pregnancy outcomes are affected by composition of embryo culture medium. **Scientific Reports**, v. 12, 7503, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11447-7>.
- BERTOLINI, M.; MASON, J. B.; BEAM, S. W.; CARNEIRO, G. F.; SWEEN, M. L.; KOMINEK, D. J.; MOYER, A. L.; FAMULA, T. R.; SAINZ, R. D.; ANDERSON, G. B. Morphology and morphometry of in vivo-and in vitro-produced bovine concepti from early pregnancy to term and association with high birth weights. **Theriogenology**, v. 58, n. 5, p. 973-994, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(02\)00935-4](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(02)00935-4).
- BLOISE, E.; FEUER, S. K.; RINAUDO, P. F. Comparative intrauterine development and placental function of ART concepti: implications for human reproductive medicine and animal breeding. **Human Reproduction Update**, v. 20, n. 6, p. 822-839, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmu032>.
- CHEN, Z.; HAGEN, D. E.; ELSIK, C. G.; JI, T.; MORRIS, C. J.; MOON, L. E.; RIVERA, R. M. Characterization of global loss of imprinting in fetal overgrowth syndrome induced by assisted reproduction. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, n. 15, p. 4618-4623, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1422088112>.
- DENICOL, A. C.; SIQUEIRA, L. G. B. Maternal contributions to pregnancy success: from gamete quality to uterine environment. **Animal Reproduction**, v. 20, n. 2, e20230085, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/1984-3143-AR2023-0085>.
- FARIN, P. W.; PIEDRAHITA, J. A.; FARIN, C. E. Errors in development of fetuses and placentas from in vitro-produced bovine embryos. **Theriogenology**, v. 65, n. 1, p. 178-191, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.09.022>.
- GRAZUL-BILSKA, A. T.; BOROWICZ, P. P.; JOHNSON, M. L.; MINTEN, M. A.; BILSKI, J. J.; WROBLEWSKI, R.; REDMER, D. A.; REYNOLDS, L. P. Placental development during early pregnancy in sheep: vascular growth and expression of angiogenic factors in maternal placenta. **Reproduction**, v. 140, n. 1, p. 165-174, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1530/rep-09-0548>.
- HANSEN, P. J.; DOBBS, K. B.; DENICOL, A. C. Programming of the preimplantation embryo by the embryokine colony stimulating factor 2. **Animal Reproduction Science**, v. 149, n. 1/2, p. 59-66, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.05.017>.
- HANSEN, P. J.; ESTRADA-CORTÉS, E.; AMARAL, T. F.; RAMÍREZ-HERNÁNDEZ, R. Meta-analysis to determine efficacy of colony-stimulating factor 2 for improving pregnancy success after embryo transfer in cattle. **Theriogenology**, v. 219, p. 126-131, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2024.02.025>.
- SANTOS, F.; DEAN, W. Epigenetic reprogramming during early development in mammals. **Reproduction**, v. 127, n. 6, p. 643-651, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1530/rep.1.00221>.

SIQUEIRA, L. G. B.; TRIBULO, P.; CHEN, Z.; DENICOL, A. C.; ORTEGA, M. S.; NEGRON-PEREZ, V. M.; KANNAMPUZHA-FRANCIS, J. P.; POHLER, K. G.; RIVERA, R. M.; HANSEN, P. J. Colony-stimulating factor 2 acts from days 5 to 7 of development to modify programming of the bovine conceptus at day 86 of gestation. **Biology of Reproduction**, v. 96, n. 4, p. 743-757, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1093/biolre/iox018>.

SPECKHART, S. L.; OLIVER, M. A.; EALY, A. D. Developmental hurdles that can compromise pregnancy during the first month of gestation in cattle. **Animals**, v. 13, n. 11, 1760, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani13111760>.

VIANA, J. H. M. 2022 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals: the main trends for the world embryo industry still stand. **Embryo Technology Newsletter**, v. 41, p. 20-38, 2023.

VIUFF, D.; RICKORDS, L.; OFFENBERG, H.; HYTTTEL, P.; AVERY, B.; GREVE, T.; OLSAKER, I.; WILLIAMS, J. L.; CALLESEN, H.; THOMSEN, P. D. A high proportion of bovine blastocysts produced in vitro are mixoploid. **Biology of Reproduction**, v. 60, n. 6, p. 1273-1278, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod60.6.1273>.

WAGTENDONK-DE LEEUW, A. M. van; AERTS, B. J.; DAAS, J. H. den. Abnormal offspring following in vitro production of bovine preimplantation embryos: a field study. **Theriogenology**, v. 49, n. 5, p. 883-894, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(98\)00038-7](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(98)00038-7).

WANG, J. X.; NORMAN, R. J.; WILCOX, A. J. Incidence of spontaneous abortion among pregnancies produced by assisted reproductive technology. **Human Reproduction**, v. 19, n. 2, p. 272-277, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1093/humrep/deh078>.

Percepção do público universitário sobre o leite

Laura Destro Rodrigues^{(1) (3)} e Kennya Beatriz Siqueira⁽²⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/Fapemig), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Pesquisadora, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾E-mail: laura.d.rodrigues@ufv.br.

Resumo — Entender a percepção do consumidor sobre o produto é fundamental para seu sucesso comercial e aceitação no mercado. Para isto, o método de associação de palavras se mostrou eficiente para explorar a visão dos consumidores sobre diversos produtos de forma prática e econômica. Um questionário online elaborado no Google Forms® foi utilizado para aplicar o método da associação de palavras, direcionado ao público acadêmico, visando entender sua percepção sobre o leite. Com os dados obtidos, realizou-se inicialmente uma análise de sentimentos para definir a percepção geral dos estudantes universitários como positiva, negativa, neutra. Em seguida, as palavras foram separadas em categorias para entender as conexões feitas com o produto. Os resultados indicaram que o público universitário percebe o leite como uma matéria-prima de origem animal, muito usado em preparações culinárias, com uma visão majoritariamente positiva sobre o produto.

Termos para indexação: lácteos, análise de sentimentos, associação de palavras, análise qualitativa.

University students' perception of milk

Abstract — Understanding consumer perception of a product is fundamental for its commercial success and market acceptance. To this end, the word association method has proven efficient in exploring consumers' views on various products in a practical and economical way. An online questionnaire created in Google Forms® was used to apply the word association method, targeting an academic audience to understand their perception of milk. With the obtained data, a sentiment analysis was initially conducted to determine the overall perception of university students as positive, negative, or neutral. Then, the words were categorized to understand the connections made with the product. The results indicated that the university audience perceives milk as an animal-derived raw material, widely used in culinary preparations, with a predominantly positive view of the product.

Index terms: dairy, sentiment analysis, word association, qualitative analysis.

Introdução

OA percepção dos consumidores em relação ao produto é um fator crucial para o sucesso comercial e a aceitação no mercado. Compreender como os consumidores percebem e associam os produtos é essencial para estratégias de marketing eficazes e para a formulação de produtos que atendam às preferências do público-alvo. Em adição, Szakos et al. (2020) encontraram diferenças na percepção de alimentos entre grupos de pessoas com diferentes idades, valorizando diversos aspectos do produto. Entre esses produtos, os lácteos incluem uma vasta gama de itens como leite, queijos e iogurtes, sendo amplamente consumidos e com características distintas entre si em sabor, textura, aroma e apresentação, gerando diferentes impressões entre os consumidores.

Nesse contexto, o método da associação de palavras emerge como uma ferramenta valiosa para explorar essas percepções, sendo um método prático, eficiente e de baixo custo (Cordova, 2019). Este método qualitativo permite captar a resposta imediata e intuitiva dos consumidores ao se depararem com diferentes produtos lácteos. A associação de palavras pode revelar a forma como os consumidores associam características, emoções e qualidades aos produtos lácteos, oferecendo uma visão detalhada dos aspectos que influenciam suas decisões de compra e preferências, além da percepção geral do produto.

Li et al. (2022) indicaram que o público universitário dá prioridade ao sabor, disponibilidade e preço em suas escolhas alimentares, por vezes negligenciando opções saudáveis. Segundo IBGE (2020), o leite é o produto mais consumido na categoria de lácteos, correspondendo a cerca de 62% do consumo total de laticínios no Brasil. Ademais, é um produto com diversos benefícios à saúde e com muitos nutrientes a um custo acessível (Siqueira et al., 2020; Eberle et al., 2023). Porém, apesar do leite ser um alimento saudável, acessível e bem consolidado no mercado, é necessário avaliar a percepção sobre o produto para compreender se o leite é atrativo para o público universitário e desenvolver estratégias para atingir este público.

Neste artigo, buscou-se investigar a percepção dos consumidores universitários sobre leite por meio da associação de palavras. Especificamente, o estudo visa identificar as associações predominantes e o impacto na imagem e aceitação do leite entre os universitários no Brasil.

O conteúdo desse documento 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 do 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

Para este fim, elaborou-se um questionário online por meio do Google Forms® para se aplicar o método de associação de palavras. Os critérios de seleção dos participantes eram: ser estudante universitário, seja da graduação ou da pós-graduação, e consumir leite e derivados. Os participantes aptos eram direcionados à segunda fase do teste, onde era solicitado que escrevessem as quatro palavras que associavam ao produto leite, de origem bovina.

As respostas aptas foram então organizadas e tratadas, realizando uma busca por termos recorrentes seguido de agrupamento em categorias, seguindo a metodologia de Minim (2018). As categorias foram definidas segundo a natureza das palavras citadas,

visando agrupa-las de acordo com a relação das mesmas com o produto. No total, foram consideradas sete categorias, sendo elas: sensorial, produtos lácteos, outros produtos, origem e produção, nutrição e composição, saúde e fisiologia e a categoria outros. Foram consideradas apenas categorias que fossem mencionadas por mais de 10% dos participantes, excluindo então a categoria saúde e fisiologia e outros.

Realizou-se também uma análise de sentimentos para avaliar a percepção geral do consumidor sobre o produto e sua aceitação. Essa análise considerou apenas palavras que expressavam sentimento ou percepção diretamente sobre o produto, seguindo a fundamentação teórica de Souza et al. (2017), reduzindo a amostra para 60 palavras, manualmente divididas entre positivas, negativas e neutras.

Resultados e discussão

A análise de sentimentos evidenciou uma imagem positiva do leite, com 42% de impressões positivas, 38% neutras e 20% negativas. Isso indica uma boa aceitação do produto. Ressalta-se que 67% das palavras que compuseram a classificação negativa estavam relacionadas a problemas de saúde. Isso indica que a percepção negativa do consumidor está majoritariamente ligada a fatores fisiológicos do consumidor como alergias e intolerância a componentes do leite.

Em seguida, realizou-se a separação em categorias para entender quais conexões o consumidor universitário faz com o produto (Tabela 1).

Tabela 1. Total de palavras e porcentagem em cada categoria de palavras associadas ao leite, resultantes do teste de associação de palavras, com suas respectivas abreviações.

Categorias e respectivas abreviaturas	Total	Porcentagem
Derivados do leite (L)	51	21%
Sensorial (S)	49	20%
Acompanhamentos/Preparações (AP)	47	19%
Origem/Produção (OP)	40	16%
Composição (C)	40	16%

Pela Tabela 1 pode-se concluir que o leite é geralmente percebido como matéria-prima para outros produtos lácteos, com a categoria Derivados (L) correspondendo a 20% do conjunto total de palavras. O leite também foi muito relacionado aos seus atributos sensoriais e utilização em preparações e refeições, acompanhado ou acompanhando outros produtos, correspondendo a 20% e 19%, respectivamente, nas categorias Sensorial (S) e Acompanhamentos/Preparações (AP).

As categorias mais citadas e com relevância de mais de 10% em relação ao total da amostra se relacionaram diretamente com as palavras com maior nível de incidência. Entre as palavras mais citadas estavam: Vaca (10%), Queijo (8%), Café (6%), Branco e Doce (ambas com 5%). Assim, observa-se, inicialmente uma forte relação entre vaca e leite, indicando que os consumidores percebem o leite como um produto de origem animal, em detrimento do crescimento do mercado de bebidas vegetais análogas ao leite. Essa conexão se mostra positiva para a indústria de laticínios que busca evitar possíveis confusões com o uso do termo “leite” em seus produtos (Roux, 2017), antes utilizado apenas para produtos derivados da ordenha. A frequência das palavras Queijo e Café reforçam a associação do

leite com seus derivados e com acompanhamentos. Por fim, Branco e Doce ressaltam as características sensoriais do leite.

As outras categorias com relevância acima de 10% foram: Origem/Produção (OP) e Composição (C), ambas com 16% de frequência. Isso mostra interesse pelo processo produtivo e origem do produto, com palavras como vaca, fazenda e pasteurização com maior incidência na categoria. Sugere também uma valorização da transparência com relação à procedência do leite, Ademais, nota-se uma valorização das características nutricionais do leite, sendo comumente associado como um produto proteico, fonte de cálcio e vitaminas. As palavras mais mencionadas na categoria C foram: proteína, cálcio e vitaminas, com 28%, 20% e 13%, respectivamente.

Portanto, os resultados indicam que o consumidor universitário relaciona o leite como sendo um produto de origem animal, utilizado majoritariamente na produção de derivados lácteos, mas também utilizado como ingrediente de receitas e acompanhamento em refeições. Nota-se também uma valorização do aspecto sensorial, em concordância com Li et al. (2022).

Conclusões

Por meio do teste de associação de palavras, o presente estudo analisou a percepção de consumidores universitários sobre o produto leite. Os resultados mostraram que o leite é percebido entre os estudantes da graduação e pós-graduação como um produto de origem animal e matéria-prima para diversos produtos. Ademais, também é muito relacionado com uso culinário, seja como ingrediente, acompanhamento ou consumido sozinho. Nota-se também uma valorização dos aspectos sensoriais do produto, como cor e sabor, ilustrados pela incidência da categoria S. Em adição, uma valorização do processo produtivo e origem do produto e seu valor nutricional também foi observada entre os alunos universitários. A percepção negativa sobre o produto se mostrou muito relacionada a limitações fisiológicas no consumo de leite, como a intolerância à lactose ou possíveis alergias.

Assim, os resultados auxiliam na compreensão da percepção de jovens com nível de escolaridade elevado sobre um produto tradicional, orientando possíveis estratégias de marketing e desenvolvimento de produtos para atingir este público. Estudos posteriores podem expandir essa análise de percepção sobre outros produtos lácteos, com outros parâmetros de estudo, de modo a entender mais detalhadamente a imagem do leite e seus derivados para o consumidor brasileiro.

Agradecimentos

Ao apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) - Brasil. Parte do projeto Observatório do Leite Orgânico: contribuições para o desenvolvimento da cadeia, da inteligência territorial e de subsídios à elaboração de políticas públicas. À Embrapa Gado de Leite pela oportunidade da bolsa recebida do Programa Pibic, que me proporcionou obter experiência e aprendizado, e à doutora e pesquisadora Kenya Beatriz Siqueira pelo acompanhamento, orientação e apoio durante o período de estudos e treinamento.

Referências

CORDOVA, A. G. de. **Consumo de bebidas vegetais no Brasil**: análise da percepção do consumidor, pelo uso de word association. 2019. 44 f. Monografia (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.

EBERLE, I. L.; FREITAS, F. M. N. de O.; FIGUEIREDO, R. S. Benefícios do leite de vaca em indivíduos saudáveis e suas possíveis reações alérgicas. **Revista Foco**, v. 16, n. 12, e3869, 2023. DOI: <https://doi.org/10.54751/revistafoco.v16n12-061>.

IBGE. **Pesquisa de Orçamentos familiares 2017-2018**: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101742.pdf>. Acesso em: 13 jul. 2024.

LI, X.; BRAAKHUIS, A.; LI, Z.; ROY, R. How does the university food environment impact student dietary behaviors? A systematic review. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, article 840818, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.840818>.

MINIM, V. P. R. **Análise sensorial**: estudo com consumidores. 4. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2018. 344 p.

ROUX, C. **Real dairy aims to avoid confusion with plant-based milk**. London: Mintel Group, 2017. Disponível em: <https://www.mintel.com/insights/food-and-drink/real-dairy-aims-to-avoid-confusion-with-plant-based-milk/>. Acesso em: 30 jul. 2024.

SOUZA, K. F. de; PEREIRA, M. H. R.; DALIP, D. H. UniLex: método léxico para análise de sentimentos textuais sobre conteúdo de tweets em português brasileiro. **Abakós**, v. 5, n. 2, p. 79-96, 2017. DOI: <https://doi.org/10.5752/P.2316-9451.2017v5n2p79>.

SIQUEIRA, K. B.; BINOTI, M.; NUNES, R. M.; BORGES, C. A. V. Custo benefício dos nutrientes dos alimentos consumidos no Brasil. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 5, n. 3, p. 1129-1135, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-81232020253.11972018>.

SZAKOS, D.; ÓZSVÁRI, L.; KASZA, G. Perception of older adults about health-related functionality of foods compared with other age groups. **Sustainability**, v. 12, n. 7, 2748, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/su12072748>.

Padrões de consumo de queijos no Brasil: Uma abordagem por meio do Observatório do Consumidor

Laura Destro Rodrigues^{(1) (5)}, Kennya Beatriz Siqueira⁽²⁾, Thallys da Silva Nogueira⁽³⁾ e Priscila Vanessa Zabala Capriles Goliatt⁽⁴⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/Fapemig), Embrapa Gado de Leite, MG. ⁽²⁾Pesquisadora, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾Estudante de pós-graduação, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾Professora, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. ⁽⁵⁾E-mail: laura.d.rodrigues@ufv.br.

Resumo — O uso das redes sociais transformou a forma como as informações são compartilhadas, facilitando a pesquisa científica. Com isso, a ferramenta Observatório do Consumidor (OC) foi desenvolvida para monitorar o comportamento do consumidor por meio das postagens sobre lácteos nas redes sociais. Este estudo utilizou dados do OC para investigar os padrões de consumo de queijos no Brasil. As postagens indicam que os queijos de maior interesse no Brasil são: requeijão, queijo coalho e queijo brie, com o pão sendo o acompanhamento mais citado. Os resultados mostram certa distinção entre as formas de consumo de cada categoria de queijo, indicando diferentes motivações para o interesse no produto.

Termos para indexação: perfil do consumidor, lácteos, tendências, redes sociais.

Brazilian consumption patterns for cheese: A study through Observatório do Consumidor

Abstract — The use of social networks has transformed the way information is shared, thereby facilitating scientific research. Consequently, the Observatório do Consumidor (OC) tool was developed to monitor consumer behavior through social media posts about dairy products. This study utilized data from the OC to investigate cheese consumption patterns in Brazil. The posts indicate that the cheeses of greatest interest in Brazil are cream cheese, coalho cheese, and brie, with bread being the most mentioned accompaniment. The results reveal a certain distinction between the ways in which each category of cheese is consumed, indicating different motivations for interest in the product.

Index terms: customer profile; dairy; trends; social media.

Introdução

O advento das redes sociais transformou ao longo dos anos a maneira como as informações são compartilhadas e consumidas. Ademais, o uso de ferramentas e redes sociais para fins de pesquisa se mostrou uma valiosa aquisição, com maior velocidade de coleta de informação e produção científica, além de serem práticas e cômodas para os próprios participantes, melhorando sua adesão (Faleiros et al., 2016). Com as pessoas cada vez mais conectadas, compartilhar informações e experiências se tornou mais fácil e globalizado com o uso de redes sociais, principalmente sobre seus padrões de consumo. Por meio de interações, postagens, avaliações e compartilhamentos, os consumidores expressam suas preferências, opiniões e expectativas de forma espontânea e contínua, gerando uma ampla e diversificada fonte de dados para análises sobre padrões e preferências de consumo, além de auxiliar na identificação de um público mais específico.

Diante disso, a Embrapa Gado de Leite, em parceria com a UFJF e IFSudeste, desenvolveu a ferramenta Observatório do Consumidor® (OC), que monitora as postagens sobre o leite e seus derivados nas redes sociais. A ferramenta utiliza conceitos de Business Intelligence (BI) para coletar, armazenar, processar e analisar dados de redes sociais como X (antigo Twitter) e YouTube, além de ferramentas de análise de tendências como o Google Trends. O principal objetivo do OC é fornecer à indústria de laticínios, dados e características sobre o perfil dos consumidores de lácteos no Brasil, ajudando as empresas a entenderem melhor o mercado e seu público-alvo. Ao identificar padrões e tendências no comportamento do consumidor, o OC permite que a indústria se adapte rapidamente às mudanças no mercado, superando as limitações de pesquisas oficiais que frequentemente apresentam dados desatualizados. Utilizando os dados do OC, Nogueira et al. (2021) identificou tendências de consumo de queijos artesanais no Brasil, indicando como o uso dessa base de dados pode gerar insights importantes para a indústria láctea.

Particularmente, o consumo de queijos corresponde a 7% do consumo total de lácteos no Brasil (IBGE, 2020). Isso indica como o consumo de queijos é comum no país, refletindo não apenas uma escolha alimentar, mas também aspectos culturais e socioeconômicos. Entretanto, essa base de dados fornece apenas informações generalizadas, além de se tratar de dados já defasados. Visando suprir essa lacuna, o presente artigo tem como objetivo investigar os padrões de consumo de queijos a partir de dados obtidos de redes sociais por meio do OC, que utiliza uma base de dados constantemente atualizada. Dessa forma, objetivou-se especificamente explorar diversos aspectos do consumo de queijos populares, finos e artesanais, oferecendo uma visão abrangente sobre os hábitos alimentares que envolvem o consumo desses produtos no Brasil.

O conteúdo desse documento 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, contribui para o alcance do 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 queijos produzidos e comercializados no Brasil foram separados em três categorias: queijos populares, finos e artesanais. A categorização se deu conforme denominação e dados contidos na literatura, considerando também as diferentes grafias que podem ser encontradas, como o caso do queijo mussarela, muçarela ou mozzarella. Dessa forma,

criaram-se três listas de palavras-chaves para cada categoria contendo os nomes de cada tipo de queijo para serem localizados pela ferramenta.

O OC opera com uma coleta inicial de dados, ou seja, uma varredura pelas publicações buscando as palavras-chaves selecionadas, nesse caso, o nome de diversos queijos, e armazenando as informações em cada categoria anteriormente dividida. Os dados utilizados neste estudo foram provenientes da base de dados da rede social X. Em seguida, realiza-se o processamento inicial dos dados, removendo caracteres indesejados e padronizando os dados coletados. Por meio do uso de IA é feito, inicialmente, uma análise de sentimentos, onde o programa identifica publicações com características positivas, neutras ou negativas com relação às palavras de interesse.

Posteriormente, a ferramenta usa Programação de Linguagem Natural (PLN) e IA para realizar um pós-processamento, em que é feito uma mineração de dados e análise facial para obter informações sobre características do consumidor e padrões de consumo. As informações coletadas com a mineração de dados foram: gênero, região, renda, profissão e geração (idade), tipos de queijo mais citados em cada categoria e os acompanhamentos mais comuns.

Ao todo, foram analisadas 1.772.609 publicações sobre queijos na rede social X no Brasil no período de maio de 2020 a agosto de 2023.

Resultados e discussão

Do total de publicações coletadas, a grande maioria era referente aos queijos populares (69%), seguido dos queijos artesanais (26%) e queijos finos (5%). A análise de sentimentos mostrou que todas as categorias de queijos analisadas são avaliadas de forma majoritariamente positiva. O percentual de postagens com conteúdo positivo sobre queijos finos, populares e artesanais foi em torno de 80%, 79% e 74%, respectivamente. Isso indica que os dados utilizados podem ser considerados para analisar um público que valoriza o produto e que consome ou tem interesse em consumir queijos de diferentes categorias.

Os resultados indicaram que não houve diferenciação entre o perfil dos autores das postagens das três categorias analisadas. Sendo assim, o maior interesse por queijos na rede social X vem, em geral, de homens da geração Y, ou seja, com idades entre 25 a 40 anos, e pertencente à classe social D, com renda entre 1 salário e 3 salários mínimos. A localização das postagens era majoritariamente na região Sudeste.

A Tabela 1, a seguir, apresenta o ranking dos três principais tipos de queijos citados em cada categoria e seus principais acompanhamentos.

Tabela 1. Ranking dos tipos de queijos e seus acompanhamentos mais citados no X no Brasil.

Populares		Finos		Artesanais	
Requeijão	Pão	Brie	Pão	Queijo Coalho	Pão
Danoninho	Pão de queijo	Parmesão	Pimenta	Queijinho	Manteiga
Queijo Minas	Miojo	Gorgonzola	Tomate	Queijo Manteiga	Leite

O queijo que mais apareceu nas postagens foi o requeijão, citado em 40% das menções a queijos na rede X. O requeijão foi seguido pelo queijo coalho, com 8%, ressaltando a grande popularidade do requeijão, que pode ser justificada pela versatilidade do produto. Entre os queijos finos, o *Brie* se destacou, correspondendo a 26% entre as citações a

queijos finos, porém apenas 1% entre as citações totais. Assim, é possível concluir que os queijos populares são os que têm maior interesse dos consumidores brasileiros. Os queijos artesanais ficaram em segundo lugar no ranking de popularidade, seguidos dos queijos finos, que ainda se mantêm como produtos mais elitizados.

Pela análise dos acompanhamentos citados na Tabela 1, observa-se que os queijos populares são comumente associados a produtos práticos e típicos do dia a dia de brasileiros, indicando uma preferência por conveniência no momento do consumo. Já os queijos finos são vinculados a combinações mais sofisticadas, que realçam o sabor do produto, como pimentas e tomate, indicando uma inclinação ao consumo em momentos especiais. Os principais queijos citados na categoria foram o queijo Brie, Parmesão e Gorgonzola, caracterizados pelo sabor forte e característico, de forma a serem consumidos esporadicamente, em ocasiões particulares (Pinto et al., 2012). Por fim, os queijos artesanais estão ligados a produtos tradicionais e simples, como leite e manteiga, que podem ser utilizados tanto como ingredientes, quanto como acompanhamentos. Isso sugere versatilidade no consumo de tais produtos, reforçado pelas variedades mais citadas, em que o queijo Coalho, por exemplo, pode ser tanto consumido como alimento principal ou acompanhamento em refeições. Nota-se também que o pão foi o acompanhamento mais citado em todas as categorias, com incidência de 29% entre as citações a queijos, o que indica que, independentemente do tipo de queijo, o pão é o acompanhamento que os brasileiros mais empregam e associam ao consumo de queijo.

Conclusões

Com a popularização do uso de ferramentas e outros recursos *online*, utilizamos dados do Observatório do Consumidor, obtidos por meio da mineração de dados em postagens do X, para analisar o padrão de consumo de queijos populares, finos e artesanais no Brasil.

Os resultados mostram certa distinção entre as formas de consumo de cada categoria de queijo, indicando diferentes motivações para o interesse pelo produto. Os queijos populares parecem estar sendo mais consumidos no dia a dia, em contraste com os queijos finos, que são associados a preparações mais elaboradas, o que pode indicar uma preferência pelo consumo em momentos particulares, como festas e confraternizações. Já os queijos artesanais foram associados a produtos tradicionais e versáteis, que podem tanto fazer parte de preparações culinárias como em momentos especiais. No entanto, é interessante notar que o principal acompanhamento citado para todas as categorias foi o pão.

Apesar das preferências distintas quanto aos acompanhamentos do produto, o perfil de pessoa com interesse em queijos se mostrou consistente entre as três categorias analisadas, sendo comumente um homem de classe média baixa da geração Y. Essas informações são valiosas para direcionar estratégias de marketing e desenvolvimento de produtos que atendam melhor às necessidades e desejos de potenciais consumidores de queijos no Brasil, por meio do uso de dados recentes obtidos pelo OC.

Agradecimentos

Ao apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) - Brasil. Parte do projeto Observatório do Leite Orgânico: contribuições para o desenvolvimento da cadeia, da inteligência territorial e de subsídios à elaboração de políticas públicas. Ao Observatório do Consumidor, pela disponibilização dos dados utilizados neste estudo. À Embrapa Gado de Leite pela oportunidade da bolsa recebida do Programa Pibic, que me proporcionou obter experiência e aprendizado, e à doutora e pesquisadora Kenya

Beatriz Siqueira pelo acompanhamento, orientação e apoio durante o período de estudos e treinamento.

Referências

FALEIROS, F.; KÄPPLER, C.; PONTES, F. A. R.; SILVA, S. S. da C.; GOES, F. dos S. N.; CUCICK, C. D. Uso de questionário online e divulgação virtual como estratégia de coleta de dados em estudos científicos. **Texto & Contexto - Enfermagem**, v. 25, n. 4, e3880014, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/0104-07072016003880014>.

IBGE. **Pesquisa de Orçamentos familiares 2017-2018**: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101742.pdf>. Acesso em: 13 jul. 2024.

NOGUEIRA, T. da S.; SIQUEIRA, K. B.; GOLIATT, P. V. Z. C. Mineração de dados em rede social para avaliação de tendências de consumo do queijo artesanal no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROINFORMÁTICA, 13., 2021, Bagé. **Anais**. Bagé: Universidade Federal do Pampa, 2021. p. 179-187. DOI: <https://doi.org/10.5753/sbiagro.2021.18389>.

PINTO, C. L.; VIANA, L. C.; OLIVEIRA, S. R. D.; SETTE, R. D. S. Consumo de queijos finos: aspectos simbólicos e identitários. **Ciências Sociais Aplicadas em Revista**, v. 12, n. 22, p. 71-87, 2012.

Previsão de Vendas de Lácteos no Brasil

Ygor Martins Guimaraes⁽¹⁾⁽³⁾ e Kennya Beatriz Siqueira⁽²⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/CNPq.), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Pesquisadora, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾E-mail: ygor_martinsg@hotmail.com.

Resumo — Modelos de previsão são essenciais para a tomada de decisões econômicas, especialmente em setores sazonais como o agropecuário, onde prever indicadores financeiros é vital para o planejamento estratégico das empresas. No Brasil, a falta de dados oficiais de consumo atualizados dificulta a tomada de decisão. Este estudo visa prever as receitas de vendas de produtos lácteos no Brasil, combinando dados de renda e população com o interesse do consumidor disponível no Google Trends. Foram utilizados dados da Pesquisa Industrial Anual (PIA) do IBGE, de 2014 a 2022, para leite condensado, manteiga, leite pasteurizado, queijos e iogurte. As variáveis de renda e população foram coletadas da Pesquisa Nacional por Amostragem de Domicílios (PNAD) e do Censo Demográfico, ambos do IBGE. O método de amortecimento exponencial foi empregado para estimar as séries temporais. Os resultados indicam aumento na receita de vendas para todos os produtos estudados. Queijos e iogurtes apresentaram as maiores estimativas para 2023 e 2024, com crescimento de mais de 10% ao ano. Leite condensado e leite pasteurizado mostraram estimativas de crescimento menor. Os resultados estão em linha com as últimas pesquisas privadas de consumo no Brasil, indicando que, apesar do aumento dos preços, a demanda por laticínios está se mantendo. Dessa forma, o uso do Google Trends como variável adicional foi um avanço significativo, permitindo ajustar melhor as estratégias de produção e marketing às tendências emergentes, auxiliando os produtores a se posicionarem proativamente diante das mudanças no comportamento do consumidor.

Termos para indexação: previsão, leite, internet, séries temporais, consumo.

Sales Forecast of Dairy Products in Brazil

Abstract — Forecast models are essential for economic decision-making, especially in seasonal sectors like agriculture, where predicting financial indicators is vital for strategic business planning. In Brazil, the lack of updated official consumption data hampers decision-making. This study aims to forecast dairy product sales revenues in Brazil by combining income and population data with consumer interest available on Google Trends. Data from the Annual Industrial Survey (PIA) of the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE) from 2014 to 2022 were used for condensed milk, butter, pasteurized milk, cheese, and yogurt. Income and population variables were collected from the National Household Sample Survey (PNAD) and the Demographic Census, both conducted by IBGE. The exponential smoothing method was employed to estimate the time series. The results indicate an increase in sales revenue for all products studied. Cheese and yogurt showed the highest estimates for 2023 and 2024, with growth exceeding 10% per year. Condensed milk and pasteurized milk showed lower growth estimates. The results are consistent with the latest private consumption surveys in Brazil, indicating that despite rising prices, demand for dairy products remains stable. Thus, the use of Google Trends as an additional variable was a significant advancement, allowing for better adjustment of production and marketing strategies to emerging trends, helping producers proactively position themselves in response to changes in consumer behavior.

Index terms: forecast, consumer, google trends, time Series, consumption.

Introdução

Os modelos de previsão são elementos importantes do processo de tomada de decisão econômica em qualquer nível hierárquico de gestão e em qualquer área de atividade humana, incluindo a econômica. São especialmente importantes em áreas da economia com produção sazonal e um período significativo de retorno do capital, tais como o setor agropecuário (Shyian et al., 2021). Nestes segmentos, prever indicadores financeiros e econômicos é vital para que as empresas planejem suas futuras receitas e despesas das atividades operacionais e desenvolvam a estratégia correta, de modo a criar condições favoráveis para a tomada de decisões fundamentadas.

Na literatura mundial sobre laticínios, diversos estudos têm se concentrado em modelar os indicadores de preço e vendas. Na Turquia, por exemplo, utilizou-se o modelo ARIMA para prever a produção de leite (Yonar et al., 2022). Modelos semelhantes foram aplicados na Índia e na China (Devi et al., 2021; Mishra et al., 2022). Utilizando o modelo Holt-Winters, outras pesquisas também foram conduzidas para prever indicadores relacionados ao leite (Gálvez-Soriano, 2018; Kolkova et al., 2018).

No contexto brasileiro, a escassez de dados oficiais atualizados de consumo de alimentos impõe desafios adicionais para a tomada de decisões (Sales et al., 2020). Para preencher essa lacuna, o presente estudo visa estimar as receitas de vendas de diversos produtos lácteos no Brasil, combinando dados tradicionais de renda e população com informações de interesse do consumidor obtidas do Google Trends. A ferramenta do Google Trends foi escolhida por permitir acompanhar a popularidade dos termos de pesquisa selecionados ao longo do tempo, o que reflete o interesse do consumidor por eles.

O conteúdo desse documento 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, contribui para o alcance do 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 utilizados os dados da Pesquisa Industrial Anual (PIA) do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2024b), que fornecem a receita de vendas de produtos lácteos da indústria, de 2014 a 2022. Empregou-se a análise de correlação de Pearson entre os dados da PIA e do Google Trends, foram selecionados os derivados a serem estudados, considerando apenas aqueles que apresentaram correlação superior a 80%. Assim, os derivados selecionados foram: leite condensado, manteiga, leite pasteurizado, queijos e iogurte.

A fim de definir as variáveis presentes no modelo, foi considerada a literatura mais atual sobre tema (Gálvez-Soriano, 2018; Kolkova et al., 2018; Devi et al., 2021; Mishra et al., 2022; Yonar et al., 2022), observando as variáveis significativas nos estudos. Posteriormente, para avaliar a significância estatísticas das variáveis para o modelo foi realizado o método de stepwise (Gao et al., 2020). Assim, as variáveis incorporadas no estudo foram: renda e população.

Para a coleta das variáveis renda e população foi utilizada a Pesquisa Nacional por Amostragem de Domicílios (PNAD) e o Censo Demográfico, ambas do IBGE (2024a, 2024c). Para medir o interesse dos consumidores por lácteos, foi empregado o Google Trends.

Considerando o conjunto de dados disponíveis e a intenção de estimar a receita de vendas dos produtos lácteos foi aplicado o método de amortecimento exponencial como a técnica para estimar séries temporais. Essa técnica é amplamente utilizada para prever dados que mudam ao longo do tempo, destacando tendências e sazonalidades presentes nos dados.

Desta forma, o modelo utilizado, definido por Zanini (2012) citado por Esposito (2022), é apresentado em forma de equação:

$$Z_t = (a_1(T) + a_2(T) t) * p_t + \varepsilon$$

em que Z_t representa o valor esperado da variável no período t , $a(T)$ indica o parâmetro representativo do nível médio da variável no instante T e ε é o erro de previsão. O método fornece as estimativas da receita de vendas e as estatísticas de teste presentes para cada derivado.

Resultados e discussão

Com o modelo definido foi possível estimar a receita de vendas de cinco produtos lácteos selecionados. A Tabela 1 traz os resultados do modelo, bem como as estatísticas de teste para cada estimativa.

Tabela 1. Estimativas das receitas de venda de lácteos selecionados.

Produtos	2023		2024		Produtos	
	Estimativa (R\$)	Variação (%)	Estimativa (R\$)	Variação (%)	R2 ajustado (%)	MAPE (%)
Leite condensado	4.930.409	6,2	5.236.823	6,2	91,20	2,32
Manteiga	3.081.658	7,4	3.336.538	8,3	89,49	2,27
Leite pasteurizado	3.783.361	6,4	4.011.644	6,0	88,78	2,39
Queijos	27.458.385	14,9	31.500.898	14,7	96,85	2,41
Iogurte	6.812.652	22,6	7.464.849	10,6	85,89	2,56

Fonte: Resultados da pesquisa.

Os resultados indicam estimativa de aumento na receita de vendas para todos os derivados analisados. Contudo, o segmento de queijos e iogurte apresentaram as maiores estimativas de altas para 2023 e 2024. Conforme Vaz e Hoffmann (2020), estes dois produtos apresentam menor elasticidade-renda, além de maior valor agregado, o que os possibilita atingir um público de alta renda e performar bem em períodos inflacionários.

Por outro lado, o leite condensado e o leite pasteurizado apresentaram estimativa de crescimento na receita de vendas de apenas 6% nos dois anos analisados. Esse valor, associado a uma inflação oficial medida pelo IBGE em 4,62%, implica em um custo de oportunidade para fábricas e indústrias que pode resultar na saída dessas empresas da atividade.

Os dados presentes no estudo estão em consonância com as últimas pesquisas de consumo de lácteos no Brasil. A mais recente pesquisa da Associação Brasileira de Supermercados (2024) demonstrou que apesar do aumento de preços de leite e derivados nos últimos anos, a incidência desses produtos não diminuiu nos anos recentes, assim, a receita final de vendas também segue crescente.

Conclusões

Os resultados deste estudo indicaram previsões de aumento da receita de vendas acima da inflação do período para leite pasteurizado, iogurte, manteiga, leite condensado e queijos nos anos de 2023 e 2024. Os maiores destaques foram os iogurtes e os queijos, com estimativas de crescimento de mais de 10% nos dois anos estimados.

Como ponto de avanço no estudo pode-se destacar o uso do Google Trends como variável para medir o interesse do consumidor pelos produtos lácteos. Nesse contexto, as variáveis tradicionais já utilizadas em diversos outros estudos de previsão econômica, como renda e população, aliadas a novas variáveis oferecem uma oportunidade valiosa para ajustar estratégias de produção, marketing e desenvolvimento de produtos, alinhando-se com as tendências emergentes. Deste modo, produtores e empresas de laticínios podem não apenas atender melhor as demandas do mercado, mas também antecipar-se a elas, posicionando-se de forma proativa diante das mudanças no comportamento dos consumidores.

Agradecimentos

Ao apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Brasil. Parte do projeto Observatório do Leite Orgânico: contribuições para o desenvolvimento da cadeia, da inteligência territorial e de subsídios à elaboração de políticas públicas. À Embrapa Gado de Leite pela oportunidade da bolsa recebida do Programa Pibic, o que nos proporcionou obter experiência e aprendizado; à pesquisadora Kenya pelo acompanhamento, orientação e apoio durante o período de estudos e treinamento.

Referências

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SUPERMERCADOS. **Consumo nos lares brasileiros**. São Paulo, 2021. Disponível em: <https://www.abras.com.br>. Acesso em: 31 jul. 2024.
- DEVI, M.; KUMAR, J.; MALIK, D. P.; MISHRA, P. Forecasting of wheat production in Haryana using hybrid time series model. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 5, n. 12, 100175, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100175>.
- ESPOSITO, F. R. **Previsão de vendas diárias de jornais**: um estudo de caso para um ponto de venda (PDV). 2022. 39 f. Monografia (Graduação em Ciências Econômicas) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2022.
- GAO, H.; DONG, J.; CHEN, X.; CAI, H.; LIU, Z.; JIN, Z.; MAO, D.; YANG, Z.; DUAN, Z. Stepwise modeling and the importance of internal variables validation to test model realism in a data scarce glacier basin. **Journal of Hydrology**, v. 591, 125457, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2020.125457>.
- GÁLVEZ-SORIANO, O. J. Forecasting the agricultural sector of Mexico. In: PÉREZ, F. (ed.). **Economy, finance and social development in Mexico**. México: Asociación Mexicana de Investigación Interdisciplinaria, 2018. p. 42-58.
- IBGE. **Censo demográfico**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/populacao/22827-censo-demografico-2022.html>. Acesso em: 31 jul. 2024a.
- IBGE. **PIA - Pesquisa Industrial Anual - Produto**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/industria/9044-pesquisa-industrial-anual-produto.html?edicao=40478&t=destaques>. Acesso em: 31 jul. 2024b.
- IBGE. **PNAD - Pesquisa Nacional por Amostras de Domicílios**. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/44/0>. Acesso em: 31 jul. 2024c.

KOLKOVA, A. Indicators of technical analysis on the basis of moving averages as prognostic methods in the food industry. **Journal of Competitiveness**, v. 10, n. 4, p. 102-119, 2018. DOI: <https://doi.org/10.7441/joc.2018.04.07>.

MISHRA, P.; MATUKA, A.; ABOTALEB, M. S. A.; WEERASINGHE, W. P. M. C. N.; KARAKAYA, K.; DAS, S. S. Modeling and forecasting of milk production in the SAARC countries and China. **Modeling Earth Systems and Environment**, v. 8, n. 1, p. 947-959, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40808-021-01138-z>.

Apoio

