

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Tese

**Estratégias nutricionais e de criação em diferentes fases de produção de
bovinos leiteiros**

Riteli dos Santos Teixeira

Pelotas, 2024

Riteli dos Santos Teixeira

**Estratégias nutricionais e de criação em diferentes fases de produção de
bovinos leiteiros**

Dissertação/Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre/Doutor em Ciências (área de concentração: Clínica Médica Veterinária).

Orientador: Marcio Nunes Corrêa

Coorientador (es): Viviane Rohrig Rabassa

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação da Publicação

T266e Teixeira, Riteli dos Santos

Estratégias nutricionais e de criação em diferentes fases de produção de bovinos leiteiros [recurso eletrônico] / Riteli dos Santos Teixeira ; Marcio Nunes Correa, Viviane Rohrig Rabassa, orientadores. — Pelotas, 2024.

73 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2024.

1. Ambiência. 2. Bovinocultura. 3. Bezerras. 4. Homeopatia. 5. Saúde. I. Correa, Marcio Nunes, orient. II. Rabassa, Viviane Rohrig, orient. III. Título.

CDD 636.214

Pelotas, 2024
Riteli dos Santos Teixeira

**Estratégias nutricionais e de criação em diferentes fases de produção de
bovinos leiteiros**

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre/Doutor em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 26/02/2024

Banca examinadora:

Prof. Dr. Marcio Nunes Corrêa (Orientador)

Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

Dr^a. Maria Amélia Agnes Weiller

Doutora em Ciências/programa zootecnia pela Universidade Federal de Pelotas

Dr^a. Carolina Bessalho Jacometo

Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr^a. Mariana Magalhães Campos

Doutora em Zootecnia pela Escola de Veterinária pela Universidade Federal de Minas Gerais

Agradecimentos

A Deus por ter cuidado de mim.

Aos meus pais, Clarice Borba e Hamilton Acosta Teixeira, pelo amor incondicional, ensinamentos, companheirismo, apoio e por não medirem esforços para que eu chegasse até aqui.

A minha irmã Vitória dos Santos, por estar sempre torcendo por mim.

Ao meu noivo Ederson, por estar sempre comigo me apoiando, eu te amo.

Aos meus avós por terem acreditado sempre em meus sonhos.

As minhas amigas, Guta e Manu por estarem sempre comigo e tornarem os dias melhores, além de serem suporte sempre que precisei.

Aos meus colaboradores Gustavo Sousa e Wesley por terem me auxiliado com comprometimento e auxílio em nossas atividades.

Ao meu orientador Prof. Dr. Prof. Dr. Marcio Nunes Corrêa e coorientadora Viviane Rohring Rabassa pelas orientações e confiança a mim depositada para condução desses projetos, como também aos demais professores e colegas do Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (Nupeec).

A todos os funcionários da Granja 4 Irmãos S/A, em especial ao gerente Eduardo Xavier pela disponibilidade e auxílio com os animais, sem vocês nada disso seria possível.

Ao Programa de Pós-graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (PPGZ - UFPel) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de doutorado.

“Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos serão bem-sucedidos.”
Provérbios 16:3

Resumo

TEIXEIRA, Ritieli dos Santos. **Estratégias nutricionais e de criação em diferentes fases de produção de bovinos leiteiros**. 2024. 74f. Tese(Doutorado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2024.

Nos últimos anos, temos observado um aumento constante da população mundial, acompanhado por uma crescente demanda por produção de alimentos. Diante desse cenário, a pecuária leiteira precisa implementar estratégias eficazes para garantir uma alta produtividade, capaz de atender às necessidades alimentares. Aprimorar essa produção requer uma atenção redobrada dentro do sistema de produção, com foco na saúde e nutrição, visando intensificar o crescimento e desenvolvimento dos bovinos. Assim, é crucial evitar falhas no manejo em qualquer etapa do processo de criação, bem como garantir uma nutrição adequada, uma vez que qualquer deficiência pode acarretar prejuízos econômicos e resultar em uma produção ineficiente. Diante desse contexto, a busca por estratégias que atendam às exigências específicas de cada fase do ciclo produtivo se torna ainda mais importante. Essas estratégias devem ser desenvolvidas visando a redução de custos, minimização do impacto ambiental e otimização do aproveitamento dos nutrientes disponíveis.

Palavras-chave: ambiência; bovinocultura; bezerras; homeopatia; saúde.

Abstract

TEIXEIRA, Ritieli dos Santos. **Nutritional and breeding strategies in different phases of dairy cattle production.** 2024. 74f. Thesis/(Doctorate in Sciences) - Postgraduate Program in Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2024.

In recent years, we have observed a steady increase in the global population, accompanied by a growing demand for food production. Faced with this scenario, dairy farming needs to implement effective strategies to ensure high productivity capable of meeting food demands. Enhancing this production requires increased attention within the production system, focusing on the health and nutrition of cattle to intensify their growth and development. Therefore, it is crucial to avoid any lapses in management at any stage of the breeding process, as well as to ensure adequate nutrition, as any deficiency can lead to economic losses and result in inefficient production. Given this context, the pursuit of strategies that meet the specific requirements of each stage of the production cycle becomes even more important. These strategies should be developed with a view to reducing costs, minimizing environmental impact, and optimizing the utilization of available nutrients.

Keywords: ambience; calves; cattle farming; health; homeopathy.

Lista de Figuras

Figure 1	Body weight (Kg) of Holstein calves reared in different systems for 90 days after birth. Data are presented as mean $\pm$ standard error.....	32
----------	---	----

Lista de Tabelas

Artigo 1

Table 1	Morbidity, mortality, lethality and recurrence of diarrhea and bronchopneumonia in Holstein calves maintained in individual or collective housing systems in the extreme south of Brazil.....	31
Table 2	Metabolic parameters (mean $\pm$ standard error) of Holstein calves maintained in individual or collective housing systems in the extreme south of Brazil.....	31
Table 3	Zootechnical evaluations (mean $\pm$ standard error) of Holstein calves maintained in individual or collective housing systems in the extreme south of Brazil.....	32

Artigo 2

Table 1	Disease occurrence in female Holstein calves receiving the ultra-diluted product before and after weaning (208 days).....	41
Table 2	Zootechnical parameters of female Holstein calves receiving the ultra-diluted product from birth to 208 days.....	42
Table 3	Metabolic parameters of female Holstein calves receiving the ultra-diluted product from birth to 208 days.....	42

Artigo 3

Tabela 1	Ingredientes e composição química das dietas ofertadas da ração totalmente misturada com adição de proteína protegida pelo método químico com uso de agente aglutinante (AGLU), método térmico	
----------	--	--

	(TER)	ou	sem	proteção	
	(CON).....				67
Tabela 2	Médias $\pm$ erros padrões da produção e constituintes do leite de vacas da raça Holandês recebendo dietas com farelo de soja protegido por método térmico ou químico.....				68
Tabela 3	Médias $\pm$ erros padrões do consumo de matéria seca de vacas da raça Holandês recebendo dietas com farelo de soja protegido por método térmico ou químico.....				69
Tabela 4	Médias $\pm$ erros padrões da produção e constituintes do leite de vacas da raça Holandês recebendo dietas com farelo de soja protegido por método térmico ou químico.....				69

Lista de Símbolos

<	Menor
>	Maior
©	Copyright
Σ	Somatório
°C	Grau Celsius
%	Porcentagem
®	Marca Registrada
TM	Marca comercial

Sumário

1 Introdução.....	13
2 Artigos.....	19
2.1 Artigo 1.....	19
2.2 Artigo 2.....	33
2.3 Artigo 3.....	52
3 Considerações Finais.....	70
Referências.....	71

1 Introdução

Nos últimos anos, vem se buscando cada vez mais a intensificação na pecuária e melhorias na eficiência de produção (Charlton e Rutter, 2017; Winter *et al.*, 2017), visto que, com a expectativa de aumento da população mundial para 9,7 bilhões de pessoas até 2050 (Fao, 2020), a demanda por oferta de alimentos tenderá a acompanhar esse crescimento (Berry *et al.*, 2015). Nesse contexto, a implementação de estratégias visando a uma maior produtividade se tornam essenciais para atender às atuais e futuras demandas por alimentos (Michalk *et al.*, 2019)

Com isso, a pecuária leiteira se mostra como fonte de segurança alimentar (Fao, 2014a), fornecendo um alimento altamente nutritivo, rico em minerais, proteínas, lipídeos e carboidratos, ofertado de forma econômica e em grande escala (Rocha *et al.*, 2020). O Brasil, como o terceiro maior produtor de leite do mundo (FAO, 2019), desempenha um papel fundamental, com a atividade de produção estendendo-se por quase todos os municípios, e as regiões Sudeste e Sul compreendendo 68% da produção nacional (Rocha *et al.*, 2020).

De acordo com os dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no ano de 2022, foram produzidos 34,6 bilhões de litros de leite (IBGE, 2022). Essa grande produção e contribuição na economia brasileira são atribuídas ao desenvolvimento de tecnologias, melhoramento genético, intensificação dos sistemas de produção, aprimoramento no bem-estar animal e sustentabilidade, além de nutrição de precisão (Brito *et al.*, 2021).

Entretanto, é importante salientar que existem alguns pontos críticos envolvidos na produção de bovinos leiteiros, uma vez que se constitui de um ciclo onde todas as fases apresentam-se interligadas. Portanto, qualquer falha no manejo em alguma das etapas de criação, ou falhas na nutrição dentro do sistema, podem acarretar em prejuízos econômicos e resultar em uma produção ineficiente (Gross & Bruckmaier, 2019). Assim, é fundamental compreender essas etapas para otimizar a produção e assegurar sua eficácia (Erickson *et al.*, 2020).

Dentre todas as fases do sistema produtivo, a fase de criação das bezerras é frequentemente a mais negligenciada por parte dos produtores (Palczynski *et al.*, 2021). Isso ocorre porque, embora as bezerras leiteiras desempenhem um papel vital como reposição das matrizes, o retorno do investimento da criação só acontece nas primeiras lactações, tornando-se um investimento a longo prazo. Essa perspectiva errônea dos produtores torna a fase de cria como de estrangulamento dentro das fazendas leiteiras, devido aos altos índices de mortalidade observados. No Brasil, estima-se que o número de óbitos nesta fase inicial pode chegar até 26%, sendo fundamental mudar essa perspectiva para melhorar a eficiência e a sustentabilidade da produção leiteira (Azevedo *et al.*, 2021)

Diversos são os manejos que podem estar envolvidos nas altas taxas de mortalidade nos primeiros 60 a 90 dias de vida das bezerras leiteiras. Entre eles, destacam-se o manejo das vacas durante o período seco, a presença ou não de um piquete maternidade, a adequada colostragem dos animais, os primeiros cuidados iniciais após o parto, tanto com a vaca como o da bezerra, a qualidade das instalações, condições climáticas, entre outros, são alguns dos fatores de risco associados às doenças (Weaver *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2019). Todos estes fatores, somados à pressão infectiva do ambiente, contribuem para a alta ocorrência de distúrbios, principalmente do trato digestivo, como a diarreia, e do trato respiratório, como a pneumonia (Svensson *et al.*, 2003; Botteon *et al.*, 2008).

É importante salientar que as instalações onde os animais são mantidos estão intimamente ligadas à ocorrência dessas doenças, tendo em vista que a qualidade do ambiente e o grau de conforto que se proporciona a esses animais influenciam diretamente na sua capacidade de responder imunologicamente aos patógenos, (Campos & Campos, 2004). Existem diversos tipos de sistemas de criação para os animais, todos os quais devem atender a quatro requisitos essenciais: ventilação adequada, nutrição, conforto e eficiência econômica (Pereira, 2020). A ventilação adequada é crucial para reduzir a propagação de agentes patogênicos, na diminuição da umidade do ambiente e, conseqüentemente, reduzir problemas respiratórios e odores desagradáveis. No que se refere ao conforto dos animais, a instalação deve garantir acesso à água e alimentos de alta qualidade em um ambiente seco e com temperatura controlada, garantindo ao máximo as premissas de bem-estar animal (Heinrichs, 1996; Mourits *et al.*, 1997; Fao-idf, 2011). Portanto, o objetivo de uma

criação adequada é proporcionar condições ideais em termos de ambiente, nutrição, higiene e saúde para promover o desenvolvimento saudável dos animais (Pereira, 2020).

Falhas de manejos durante a criação dessas bezerras podem levar ao estresse, que por sua vez, favorece a imunossupressão, aumentando as incidências de enfermidades (Hulbert, 2020) e, conseqüentemente, a necessidade de tratamentos com antibióticos (Moberg & Mench, 2000; Rollin, 2003; Fraser, 2008; Appleby *et al.*, 2011). Todavia, muitas vezes mesmo com um ambiente adequado e dos constantes avanços nas terapias disponíveis para tratamento de enfermidades, o controle da ocorrência de doenças durante a fase de criação de bezerras representa um desafio não solucionado. Além disso, o crescente aumento da resistência bacteriana aos antibióticos tem gerado questionamentos sobre a eficácia das terapias convencionais (Jesus & Coutinho, 2018).

A utilização de antibióticos tem três finalidades principais: o tratamento da infecção por patógenos (uso terapêutico), a prevenção de surtos de doenças animais (prevenção) e como promotor de crescimento (Gould, 2016; Roth *et al.*, 2019). No entanto, é preocupante observar a utilização de antibióticos de forma indiscriminada em animais de produção, frequentemente sem respeitar período de carência, doses prescritas e, até mesmo, erros no diagnóstico de enfermidades (Poizat *et al.*, 2017).

Estima-se que só o setor pecuário é responsável em até 80% do uso de antibióticos (Cully, 2014), e o Brasil é um dos principais países que contribuem para essa estatística (Van Boeckel *et al.*, 2015). Acredita-se que até 2030 aumentará em 67% o uso de antimicrobianos na pecuária (Van Boeckel *et al.*, 2015). Além disso, estima-se que após a administração de antibióticos nos animais, entre 75% a 90% dessas substâncias não são absorvidas, portanto, resultando em sua excreção no meio ambiente como resíduos (Chee-Sanford *et al.*, 2009; Lekshmi *et al.*, 2017). Esses resíduos de antibióticos podem persistir no solo por longos períodos e serem absorvidos pelas plantas, o que pode afetar negativamente a fotossíntese, além do efeito tóxico no meio ambiente (Liu *et al.*, 2011; Moullan *et al.*, 2015).

Neste sentido, a resistência aos antibióticos e seu uso indiscriminado se tornou uma preocupação global e social por parte dos consumidores, que estão cada vez mais exigentes em consumir produtos com rastreabilidade, segurança alimentar, sustentabilidade e bem-estar animal, o que requer mudanças nas práticas da forma de criação na pecuária atual (Charlton e Rutter, 2017; Winter).

Tendo em vista a alta resistência bacteriana no mundo todo, busca-se alternativas que visam diminuir o uso de antibióticos em fazendas (Hellec *et al.*, 2021; Viksveen.2003). Dentre essas opções, a homeopatia está sendo adotada por técnicos e produtores, com o intuito de aprimorar os indicadores zootécnicos e agregar valor ao rebanho (Krömker e Leimbach. 2017; Oliveira filho *et al.*, 2007).

A homeopatia é um método terapêutico que utiliza substâncias derivadas do agente causador da doença, e representa uma alternativa promissora no controle de enfermidades como pneumonia, diarreias e estresse durante a fase inicial de criação de bezerras leiteiras (Pires, 2005). Neste contexto, são utilizados organismos vivos, diluídos e dinamizados segundo a farmacopeia homeopática (Silva *et al.*, 2007).

O uso de medicação homeopática na dieta (líquida ou sólida) nas fases de aleitamento e pós-aleitamento de bezerras leiteiras pode ser uma possibilidade ao uso de produtos químicos que, além de oneroso, é determinante de contaminações ambientais e dos indivíduos que manejam os produtos (Martins, 2021). Ainda, o uso de homeopáticos pode diminuir o número de aplicações de quimioterápicos nos animais e reduzir a pressão de seleção sobre as bactérias susceptíveis aos tratamentos convencionais (Arenales *et al.*, 2006).

Contudo, a aplicação da homeopatia veterinária, especialmente em bovinos, é um desafio considerável dado a escassez de estudos relevantes que comprovem sua eficácia (Rijnberk & Ramey, 2007). Sendo assim, avaliar a eficácia da homeopatia com base na literatura atual é uma tarefa complexa, tornando-se crucial o direcionamento de mais pesquisas para a pecuária a fim de substanciar e comprovar a eficácia da homeopatia (Doehring & Sundrum, 2014).

Por outro lado, se na criação de bezerras leiteiras o principal desafio é a alta incidência de doenças e mortalidade, nas vacas leiteiras, o desafio está ligado aos custos associados à alimentação, com isso a importância de maximizar a produtividade e a lucratividade. O melhoramento genético dos rebanhos leiteiros gerou animais altamente produtivos, porém com grandes volumes corporais para sustentar a produção de leite, com desenvolvimento tanto do trato digestivo, quanto da massa corpórea. Estudos indicam que, entre todos os custos envolvidos em um sistema leiteiro, os mais onerosos se referem à alimentação (Comissão Europeia, 2018; USDA, 2018). Ainda, dentre os componentes que compõem as dietas dos bovinos, a proteína se destaca como o ingrediente mais oneroso (Dyck & Evans, 2015; Prestegaaard-Wilson *et al.*, 2021), podendo contribuir com até 69% do custo total da

ração. Além disso, há grande excreção desse nutriente pelas fezes e urina, diminuindo seu aproveitamento e consequentemente refletindo em maior custo para o sistema, além de representar um potencial risco de contaminação ambiental (Hanigan *et al.*, 2004b).

Vacas em pico de lactação tendem a ter uma maior exigência nutricional, em virtude da síntese de leite. A produção de sólidos no leite, como a gordura e proteína, responde diretamente às fontes de aminoácidos presentes na dieta (NASEM, 2021). A resposta à suplementação de proteína durante toda a lactação pode promover um aumento na produção de leite e aumentar a porcentagem e a produção de proteína do leite (Socha *et al.*, 2005 e Wankhade *et al.*, 2017). No entanto, essa alimentação rica em proteínas tende a acrescentar maiores custos à produção, e pode levar a um aumento na excreção de nitrogênio (N) no ambiente (Lapierre *et al.*, 2018).

Em estudos avaliando o aumento da proteína bruta (PB) na dieta acima de 16,7%, para melhorar a eficiência de produção, não houve resposta satisfatória na produção ou nos componentes do leite (Cunningham *et al.*, 1996 ; Broderick, 2003 ; Socha *et al.*, 2005). A superalimentação com proteína pode resultar em diminuição da eficiência na metabolização de N pelos microrganismos ruminais, aumento da excreção de N no esterco e redução da lucratividade dos produtores de leite (Olmos Colmenero e Broderick, 2006 ; Yan *et al.*, 2006 ; Chase *et al.*, 2012).

Isso ocorre porque a proteína dietética fornecida aos ruminantes apresenta a fração degradável no rúmen (PDR) e uma fração não degradável no rúmen (PNDR) (Schwab e Broderick, 2017). A fração de PDR é utilizada pelas bactérias do rúmen para síntese de proteína microbiana, que, mais tarde, quando essas bactérias encerram seu ciclo de vida, seguem no trato intestinal onde são degradadas no abomaso e absorvidas no intestino delgado como aminoácidos. Porém, quando a quantidade de PDR ultrapassa as necessidades dos microrganismos ruminais, são produzidas elevadas concentrações de amônia (NH₃), que quando excretadas ao meio ambiente via urina e fezes podem gerar contaminação ambiental (Vaga, 2017).

Uma das alternativas sugeridas visando à lucratividade das propriedades leiteiras, com o objetivo de diminuir os custos de produção e reduzindo a excreção de N no ambiente, seria a redução das fontes de proteína na dieta, desde que a produtividade não seja comprometida (Stevens *et al.*, 2021). Sendo assim, vem-se adotando o uso de PNDR, conhecida como proteína by-pass, na dieta de vacas de

leite, a fim de aumentar a disponibilidade de proteína verdadeira, que será mantida e utilizada de forma mais eficiente pelo organismo do animal (Chesini *et al.*, 2023).

Ao contrário da PDR, a PNDR escapa da digestão ruminal, seguindo para o abomaso e, posteriormente, sendo absorvidos os aminoácidos no intestino com maior eficiência (NASEM, 2021 e Chesini *et al.*, 2023). Assim, o aumento da PNDR é uma das possibilidades que tem sido utilizadas para melhor aproveitamento do nitrogênio e diminuição da excreção para o meio ambiente (Noftsgger e St-Pierre 2003; Laudadio e Tufarelli 2010). A importância dessa abordagem é defendida por VandeHaar e St-Pierre (2006), que destacam que o aumento na captura de N dietético, juntamente com a redução das perdas excretórias de N, é fundamental para garantir a viabilidade contínua do setor leiteiro. O N é um recurso valioso, e sua gestão eficiente não apenas pode contribuir para a economia dos produtores, mas também para a sustentabilidade ambiental ao minimizar o impacto negativo das perdas de N na água e no solo (VandeHaar e St-Pierre, 2006).

A partir desse pressuposto, estudos têm sido direcionados para garantir uma melhor utilização da PNDR na dieta de vacas leiteiras (Berchielli *et al.*, 2011). Entre as estratégias investigadas, destaca-se o uso de produtos de destilaria e processos térmicos na ração, com o intuito de aumentar a disponibilidade dessa PNDR. Por exemplo, Giallongo *et al.* (2015) mostraram que a suplementação com farelo de soja extrusado a uma temperatura superior a 149°C aumenta o consumo de matéria seca e, conseqüentemente, aumenta a produção e a qualidade do leite em vacas.

Com isso podemos observar que é possível potencializarmos a produtividade leiteira, mantendo o bem-estar animal e diminuindo o impacto ambiental, através de estratégias que atendam às exigências em cada fase do ciclo produtivo, com menores custos e impacto ambiental, bem como melhor aproveitamento dos nutrientes (Borchers e Bewley, 2015; Caro *et al.*, 2016; Tricarico *et al.*, 2020). Portanto, é de extrema importância estudar estratégias na produção, visando não apenas aprimorar a rentabilidade, mas também fortalecer a sustentabilidade do sistema. Sendo assim, o objetivo da minha tese é avaliar diferentes sistemas de criação e alternativas nutricionais em distintas etapas produtivas de bovinos leiteiros.

2 Artigos

2.1 Artigo 1

Effects of different production systems on health, zootechnical and metabolic parameters in Holstein calves in the extreme south of Brazil

Riteli dos Santos Teixeira, Murilo Scalconi Nicola, Gustavo Felipe S Sousa, Uriel Secco Londero, Eduardo Xavier, Francisco Augusto Burkert Del Pino, Viviane Rohrig Rabassa, Marcio Nunes Corrêa.

Submetido à revista Semina: Ciências Agrárias

Effects of different production systems on health, zootechnical and metabolic parameters in Holstein calves in the extreme south of Brazil

Efeito de diferentes sistemas de produção sobre parâmetros de saúde, zootécnicos e metabólicos de bezerras holandês no extremo sul do Brasil

Riteli S Teixeira, Murilo S Nicola, Gustavo F S Sousa, Uriel Secco Londero, Eduardo Xavier, Francisco Augusto Burkert Del Pino, Viviane Rohrig Rabassa, Marcio Nunes Corrêa.

Highlights

Sistema de criação de bezerras leiteiras criadas em uma propriedade no sul do Brasil;
As bezerras criadas em sistema coletivo tiveram menor incidência de diarreia;
As bezerras criadas em sistema individual tiveram menor incidência de broncopneumonia;
As bezerras criadas em coletivo tiveram maior ganho de peso e perímetro torácico.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the incidence of diseases as well as metabolic and zootechnical parameters in Holstein dairy calves maintained in individual or collective housing systems in the extreme south of Brazil. One hundred calves were included immediately after birth and monitored for 90 days. Animals were randomly divided into two groups: individual stalls group (ISG) and collective stalls group (CSG). ISG calves were individually housed in 1.2m² wood pens and received 6 L of milk/day and concentrate food and water *ad libitum* for 90 days. Calves in the CSG were housed in groups containing one animal per 3 m². CSG calves received up to 8 L of milk/day at 0–15 days, milk *ad libitum* at 15–40 days, 7.2 L of milk./day at 40–60 days, and gradual weaning at 60–90 days with concentrate food and water *ad libitum*, using an automatic feeder. Additionally, the CSG calves were submitted to instrumental music during the experimental period. In both groups, Zootechnical parameters (weight, thoracic perimeter, height at the withers, and rump width) were measured weekly during the first 28 days and once every 15 days until weaning. Blood samples were retrieved weekly during the first 28 days. Metabolic parameters evaluated in this study were total calcium, beta-hydroxybutyrate (BHBA), free fatty acids (FFA), and glucose. The animals were monitored daily for clinical signs of diseases diarrhea and respiratory symptoms. We observed increased diarrhea-related morbidity and a higher rate of recurrence in the ISG (50% and 60%, respectively; $p < 0.05$) compared to those in the CSG (both 20%, $p < 0.05$ between groups). The morbidity due to bronchopneumonia was higher in the CSG (92%) than in the ISG (74%, $p < 0.05$). Recurrence of bronchopneumonia and mortality were similar between groups ($p > 0.05$). Furthermore, glucose, FFA, and BHBA concentrations were higher in the ISG ($p < 0.05$) and total calcium higher in CSG ($p < 0.05$). Finally, the weight and thoracic perimeter were higher in the CSG than those in the ISG, whereas the height and, rump width, at the withers was higher in the ISG than that in the CSG ($p < 0.05$). In conclusion, animals raised in a

collective system with automatic feeders exhibited less diarrhea and increased serum calcium as well as improved zootechnical development, although they had a higher incidence of bronchopneumonia.

Key words: Dairy calf, disease, bovine neonatology, zootechnical parameters.

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a incidência de doenças e parâmetros metabólicos e zootécnicos em bezerras Holandesas leiteiras mantidas em sistemas de alojamento individual ou coletivo no extremo sul do Brasil. Cem bezerros foram incluídos imediatamente após o nascimento e acompanhados por 90 dias. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos: grupo baias individuais (ISG) e grupo baias coletivas (CSG). Bezerros ISG foram alojados individualmente em baias de madeira de 1,2m² e receberam 6 L de leite/dia e ração concentrada e água ad libitum por 90 dias. Os bezerros no CSG foram alojados em grupos contendo um animal por 3 m². Bezerros CSG receberam até 8 L de leite/dia aos 0-15 dias, leite ad libitum aos 15-40 dias, 7,2 L de leite /dia aos 40-60 dias e desmame gradual aos 60-90 dias com alimento concentrado e água ad libitum, usando comedouro automático. Adicionalmente, os bezerros do CSG foram submetidos à música instrumental durante o período experimental. Em ambos os grupos, os parâmetros zootécnicos (peso, perímetro torácico, altura na cernelha e largura da garupa) foram medidos semanalmente durante os primeiros 28 dias e uma vez a cada 15 dias até o desmame. Amostras de sangue foram coletadas semanalmente durante os primeiros 28 dias. Os parâmetros metabólicos avaliados neste estudo foram cálcio total, beta-hidroxibutirato (BHBA), ácidos graxos livres (AGL) e glicose. Os animais foram monitorados diariamente quanto a sinais clínicos de doenças, diarreia e sintomas respiratórios. Observou-se aumento da morbidade relacionada à diarreia e maior taxa de recorrência no ISG (50% e 60%, respectivamente; $p < 0,05$) em comparação com o CSG (ambos 20%, $p < 0,05$ entre os grupos). A morbidade por broncopneumonia foi maior no CSG (92%) do que no ISG (74%, $p < 0,05$). A recorrência da broncopneumonia e a mortalidade foram semelhantes entre os grupos ($p > 0,05$). Além disso, as concentrações de glicose, AGL e BHBA foram maiores no ISG ($p < 0,05$) e cálcio total maior no CSG ($p < 0,05$). Finalmente, o peso e o perímetro torácico foram maiores no CSG do que no ISG, enquanto a altura e largura da garupa na cernelha foi maior no ISG do que no CSG ($p < 0,05$). Em conclusão, os animais criados em sistema coletivo com comedouros automáticos apresentaram menos diarreia e aumento do cálcio sérico, bem como melhor desenvolvimento zootécnico, embora tenham apresentado maior incidência de broncopneumonia.

Palavras-chave: Bezerra leiteira, doença, neonatologia bovina, parâmetros zootécnicos.

Introduction

There are different rearing systems available for dairy calves. Regardless of the system choice, it is crucial to ensure an environment with minimal infective pressure to prevent the spread of diseases among neonates (Gaspar *et al.*, 2016). Several factors affect calf development; however, which system has a greater impact on health and development remains

unclear. Furthermore, passive immunity, hygiene, and welfare are closely associated with the main neonatal diseases affecting dairy calves (Costa *et al.*, 2016).

Calves are particularly susceptible to infectious diseases due to their developing immune system (Usda, 2017). According to Paranhos da Costa (2014), good practices for calf rearing should be applied and can reduce in 70% and 54% the mortality and antibiotic treatments due to infectious diseases, respectively. Palczynski *et al.* (2021) demonstrated that management of rearing practices should focus on technical solutions, as well as infrastructure, health, and welfare of dairy calves. This highlights the importance of disease control measures within the chosen system including immunological support and adequate supplementation with colostrum, adequate diet, vaccination, hygiene, and biosafety measures to control pathogens in the environment (Johnson *et al.*, 2021).

In that way, the use of automated feeding systems in group calf rearing has increased since these systems improve working conditions, reduce labor requirements, and facilitate feeding large volumes of milk in several portions throughout the day (Medrano-Galarza *et al.*, 2017). Group-managed calves have greater socialization, increased dry matter intake and faster growth compared to calves raised in isolation (Costa *et al.*, 2016). Moreover, in group rearing systems with automatic feeders, milk intake is increased and more frequent with greater control over the intake amounts (Santos, 2013). Furthermore, social isolation can have a negative impact on social and feeding behaviors as well as on cognitive development (Hötzel *et al.*, 2014).

Nevertheless, some farmers attribute greater disease incidence to the automatic feeders and to the group housing systems due to increased contact between animals (Medrano-Galarza *et al.*, 2017). The risk of respiratory and enteric diseases is significantly higher among calves reared in groups of 6–30/pen with automatic feeders compared to those fed manually, for resulting in closer animal-to-animal contact, which could promote the spread of infections (Lundborg *et al.*, 2005; Svensson *et al.*, 2003).

Material and methods

Experimental Design

This study was approved by the Ethical Committee on Animal Experimentation of the *Universidade Federal de Pelotas* registered under number 0436. The experiment was

conducted at a farm using the intensive milk production system located in Rio Grande, RS, Brazil (32° 16 'S, 52° 32' E).

The calves were fed 4 L of colostrum in the first 24 h after birth. The colostrum quality was evaluated using a brix refractometer, and only colostrum with a quality above 21% was used (Godden *et al.*, 2019; Lombard, 2020). A blood sample was obtained 24–48 h after birth via jugular vein puncture using vacuum tubes with ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA). To evaluate passive immunity, plasma was separated to measure total plasma protein (TPP) using a refractometer. Adequate passive immunity transfer was determined for animals exhibiting TPP above 5.5 g/dL (Tyler *et al.*, 1999). Animals that did not reach this threshold value were removed from the study.

One hundred female calves were selected and identified with numbered earrings according to the protocol of the farm. The animals were randomly divided into two groups with according to the rearing systems: individual stalls group (ISG, n=50), animals were maintained in a wood pen with 1.2m² and fed 6 L of milk/day as well as concentrate and water *ad libitum* for 90 days; collective stalls group (CSG, n=50), animals were maintained in a collective system with one animal per 3 m². Animals were fed using the Calf Feeder system (CF500S, DeLaval International AB, Tumba, Suécia). In the first 20 days after birth, animals received 8 L of milk/day; from 20–40 days milk was offered *ad libitum*; from 40–60 days calves received 7.2 L of milk/day; from 60–90 days calves were gradually weaned with an incremental reduction in the milk volume over time. The CSG animals also received concentrate and water *ad libitum*. Additionally, the CSG calves were submitted to instrumental music during the experimental period.

Blood sampling and metabolic evaluations

Samples were obtained from 20 animals in each group 24–48 h after birth and subsequently on days 7, 14, 21, and 28. Blood sampling was performed in the morning using tubes with potassium fluoride and EDTA and tubes without anticoagulant. Blood was centrifuged to separate serum and plasma and stored at -20°C. Using the serum we measured total calcium concentration, BHBA, and FFA. The plasma samples collected in tubes with potassium fluoride were used to measure glucose concentrations. All the analyses were carried out using the biochemical analyzer Labmax Plenno (Labtest Diagnóstica SA, Brazil) according to the manufacturer's instructions.

Disease occurrence

Daily clinical monitoring allowed diagnosis of scours and bronchopneumonia. To diagnose diarrhea, clinical signs such as fever, inappetence, dehydration, and fecal score were evaluated (Lorenz *et al.*, 2011). The fecal consistency score was classified on a 0–4 scale (0 = normal, 1 = soft, 2 = runny, 3 = profuse watery, 4 profuse watery and bloody) (Mcguirk, 2008). Animals exhibiting fecal consistency scores of 2–4 were diagnosed with diarrhea. To diagnose bronchopneumonia clinical signs such as cough, nasal and ocular secretions, dyspnea, and abnormal breathing sounds were evaluated (Riet-correa *et al.*, 2007). The following indices were calculated based on these analyses: morbidity (number of sick animals/total number of animals), mortality (number of deceased animals/total number of animals), lethality (number of deceased animals/total number of sick animals), recurrence (number of animals falling ill twice/number of animals falling ill at least once). Treatments were provided according to each clinical case and the protocol established in the property by the Veterinarian.

Zootechnical Parameters

Animals were evaluated at birth and weekly for 28 days after birth. Subsequently, animals were evaluated on days 45, 60, and 90. Body weight was assessed using a weighing tape. Furthermore, the rump width, and thoracic perimeter were determined using a measuring tape. The height at the withers was determined using a ruler (cm). Thoracic perimeter was measured as the circumference of the thorax, height at the withers was the length from the ground to the scapular junction in a standing animal, and rump width was the length between the ischial tuberosities.

Statistical analyses

The data were analyzed using JMP (SAS, Institute Inc). The averages were analyzed using the repeated measures method considering the group, sample time point and the interaction between them. Individual means were compared using the Tukey-Kramer test. Categorical variables were evaluated using the chi-square test. The odds ratio for the occurrence of diseases between groups was calculated. A p-value <0.05 was considered statistically significant.

Results

The 100 animals reached the value exhibiting TPP above 5.5 g/dL of passive immunity to be included in the study.

The results regarding the occurrence of disease are presented in Table 1. The morbidity and recurrence of diarrhea were higher in the ISG than those in the CSG ($p < 0.05$). The calves in ISG were 4 times more likely to experience diarrhea than animals in CSG, and were 6 times more likely to experience recurrence of diarrhea. Conversely, the morbidity due to bronchopneumonia was higher in the CSG than that in the ISG ($p < 0.05$). The calves in CSG were 4 times more likely to experience bronchopneumonia than animals in ISG. Mortality and lethality of both diseases and the recurrence of bronchopneumonia were similar between the groups (Table 1).

Serum metabolic parameters are presented in Table 2. The glucose, FFA, and BHBA concentrations were higher in the ISG ($p < 0.05$), whereas total calcium was greater in the CSG group ($p < 0.05$).

The zootechnical evaluations showed that animals in the CSG had increased weight (Figure 1) and thoracic perimeter compared to those in the ISG (Table 3; $p < 0.05$). Conversely, the height at the withers and rump width was higher in the ISG than in the CSI (Table 3; $p < 0.05$).

Discussion

In this study we observed an increased morbidity and recurrence of diarrhea in the ISG compared to that in the CSG. These data are consistent with the results by Hänninen *et al.* (2003), which demonstrated an improvement in the intestinal health of calves reared in collective systems. However, other studies showed that animals reared in individual wood pens exhibited a decreased incidence of diarrhea (Svensson *et al.*, 2003). The collective system in our study had automatic feeders that maintained a consistent temperature and volume of milk provided to the calves (James & Machado, 2013). Conversely, manual feeding hinders the precise control of the temperature and volume of milk ingested by the calves. This difference could explain the increased incidence of diarrhea in the ISG (Bittar, 2016).

Animals in the ISG exhibited a lower incidence of bronchopneumonia than those in the CSG (Hulbert & Ballou, 2012). In our study, calves in the CSG had different ages, ranging from 15–90 days old, which could be a risk factor for the development of bronchopneumonia, as shown by Maier *et al.* (2019), which found that calves housed with older animals were twice as likely to develop pneumonia. Moreover, our results may be related to several factors including the use of the same feeder, infective pressure, and high density of animals per pen. These factors could increase the number of pathogens and environmental stressors affecting calf health (Lago *et al.*, 2006). The data in our study is consistent with that in the study by Brscic *et al.* (2016),

which demonstrated an increased risk of nasal secretion in animals housed together in a large space. In a smaller space, calves reduce their activity, thus decreasing the amount of dust in the environment and the risk of respiratory diseases. According to Lorenzo *et al.*, (2016), calves reared individually exhibited improved lung immunity and decreased eosinophil infiltration, agreeing with the lower occurrence of bronchopneumonia in the individual system in our study.

The zootechnical evaluations data demonstrated that the CSG animals had increased weight gain, rump width, and thoracic perimeter compared to the ISG animals. These data are consistent with other studies showing increased weight gain in calves reared in group systems (Jensen *et al.*, 2015). According to Albright & Arave (1997), calves that remain with the cow ingest milk 7–10 times/day on average, which results in increased milk consumption and weight gain. In spite of this, most farmers provide limited amounts of milk to the calves due to the perception that increased milk consumption increases the incidence of food-borne diarrhea, reduces the consumption of dry feed resulting in decreased weight gain after weaning, and also increases the overall costs associated with nutrition (Jasper & Weary, 2002). Nonetheless, our data demonstrated that maintaining the volume and temperature of milk consistent during a set period in the calf's life decreases the occurrence of diarrhea resulting in increased weight gain. Besides, the automatic milk feeders simulate the natural aspects of the feeding behaviors between the calf and the cow.

Serum glucose concentration is the most affected biomarker during ruminal development (Ferronato *et al.*, 2022). During the suckling in calves phase the liver shifts from using glucose to short-chain fatty acids as energy precursors (Baldwin *et al.*, 2004), which can decrease serum glucose concentrations. Also, diarrhea can affect glucose levels during this transition. Montgomery *et al.* (2013) found glucose levels lower than normal in heifers treated for diarrhea. Moreover, stress and cortisol levels can affect glucose metabolism, and animals reared individually may undergo increased stress which can also explain the glucose results in our study (Sapolsky *et al.*, 2000).

In our study, increased plasma concentrations of BHBA and FFA were detected in the ISG compared to those in the CSG. Reece *et al.* (2015) suggested that FFA are mobilized to maintain homeostasis when other energy sources are not readily available. This occurs early-on when calves are more dependent on milk as their main energy source. The higher energy mobilization required to maintain homeostasis in the ISG could be explained by the increased incidence of diarrhea in this group (Wiese *et al.*, 2013). In our study, the ISG animals exhibited higher FFA concentrations than CSG animals. These data are consistent with those of Larson-

Peine *et al.* (2022) and may be indicative of heightened stress and a subsequent mobilization of energy reserves

In our study, animals in the CSG group exhibited increased calcium concentrations compared to those in the ISG group. This may be related to the possible increase in milk availability for the first one (Marcato *et al.*, 2020).

The data in this study suggests that group rearing systems in the south of Brazil result in an increased incidence of respiratory diseases and decreased incidence of diarrhea among calves compared to individual rearing. The overall mortality rate in our study was low and similar to the risk reported in farms using individual rearing systems in Ontario and Minnesota (Windeyer *et al.*, 2014) as well as farms using collective systems in Minnesota and in the northwest of Iowa and Wisconsin (Jorgensen & Endres, 2016). The climate in these regions varies and is classified as humid continental in Ontario, Canada (Climate-Data). This climate is characterized by strong seasonal differences, similar to that in the south of Brazil (Reboita & Krusche, 2018).

Conclusion

Group-reared calves in the southern region of Brazil exhibited improved metabolic and zootechnical parameters compared to those reared individually. Nevertheless, the most prevalent diseases differed among groups, with diarrhea affecting mostly animals reared individually, and bronchopneumonia affecting those reared collectively.

References

- Bittar, C. M. M (2016). Cadernos técnicos de veterinária e zootecnia: Criação de bezerras leiteiras. 2016. Piracicaba: FEPMVZ, n. 81, p. 107.
- Costa, J. H. C., Von keyserlingk, M. A. G., Weary, D. M (2016). Invited review: Effects of group housing of dairy calves on behavior, cognition, performance, and health. *Journal Dairy Science*, v. 99, p. 2453–2467. doi:10.3168/jds.2015-10144
- Ferronato, G., Cattaneo, L., Trevisi, E., Liotta, L., Minuti, A., Arfuso, F., & Lopreiato, V. (2022). Effects of Weaning Age on Plasma Biomarkers and Growth Performance in Simmental Calves. *Animals*, v.12, n. 9, p. 1168. doi: 10.3390/ani12091168
- Godden, S. M., J. E. Lombard, AND A. R. Woolums. (2019). Colostrum management for dairy calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v. 35, p. 535–556. doi:10.1016/j.cvfa.2019.07.005
- Hänninen, L., de Passillé, A. M., Rushen, J. (2005) The effect of flooring type and social grouping on the rest and growth of dairy calves. *Application Animal Comportamento Science*, v. 91, p. 193-204. doi: 10.1016/j.applanim.2004.10.003

- James, B., & Machado, K. (2013). Group housing and feeding systems for calves—Opportunities and challenges. In Proc. 2013 *Western Dairy Management Conference*, Reno, NV (pp. 132-140).
- Jasper, J., & Weary, D. M. (2002). Effects of ad libitum milk intake on dairy calves. *Journal of Dairy Science*, v. 85, p. 3054-3058. doi:10.3168/jds.S0022-0302(02)74391-9
- Jensen M. B, M. B., Duve, L.R., Weary, D. M. (2015). Pair housing and enhanced milk allowance increase play behavior and improve performance in dairy calves. *Journal of Dairy Science*, v. 98, p. 2568–2575. doi:10.3168/jds.2014-8272
- Johnson, K.F., Chancellor, N., Wathes, D.C. (2021). Uma análise de fatores de risco de estudo de coorte para doenças endêmicas em bezerras leiteiras pré-desmamadas. *Animais*, v. 11, p. 378. doi: 10.3390/ani11020378
- Jorgensen, M. W., Adams-Progar, A., de Passillé, A. M., Rushen, J., Godden, S. M., Thoracicer-Jones, H., Endres, M. I. (2017). Factors associated with dairy calf health in automated feeding systems in the Upper Midwest United States. *Journal of Dairy Science*, v. 100, p. 5675–5686. doi: 10.3168/jds.2016-12501
- Jorgensen, M., Endres, M. I. (2016). Risk factors for calf mortality on farms using automated feeders in the Midwest USA. *Journal of Animal Science*, v. 94, p. 592-592. doi:10.2527/jam2016-1231
- Lago, A., Mcguirk, S. M., Bennett, T. B., Cook, N. B., & Nordlund, K. V.(2006). Calf respiratory disease and pen microenvironments in naturally ventilated calf barns in winter. *Journal of dairy science*, v. 89, n. 10, p. 4014-4025. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72445-6
- Lombard, N. J. N., Urie, F., Garry, S., Godden J., Quigley, T., Earleywine, S., Mcguirk, D. Moore, M., Branam, M., Chamorro, G., Smith, C., Shivley, D., Catherman, D., Haines, J. A., Heinrichs, R., James, J., Maas, K. S. (2020). Consensus recommendations on calf- and herd-level passive immunity in dairy calves in the United States. *Journal of Dairy Science*. In Press. doi: 10.3168/jds.2019-17955
- Larson-Peine, J. M., Heller, M. C., Rathert-Williams, A. R., Pearl, K. A., Duncan, N. B., Vander Ley, B. L., & Meyer, A. M. (2022). Blood chemistry and rectal temperature changes in a population of healthy, fall-born, suckling beef calves from birth to 72 h of age. *Theriogenology*, v. 188, p. 145-155. doi: 10.1016/j.theriogenology.2022.05.024
- Lorenzo, M. S., Hulbert, L. E., Fowler, A. L., Louie, A., Gershwin, L. J., Pinkerton, K. E., Ballou, M. A., Klasing, K. C., Mitlochner, F. M. (2016). Wooden hutch space allowance influences male Holstein calf health, performance, daily lying time, and respiratory immunity. *Journal of Dairy Science*, v. 99, p. 4678–4692. doi.org/10.3168/jds.2016-10888
- Lundborg, G. K., Svensson, E. C., Oltenacu, P. A. (2005). Herd-level risk factors for infectious diseases in Swedish dairy calves aged 0–90 days. *Preventive veterinary medicine*, v. 68, n. 2-4, p. 123-143. doi:10.1016/j.prevetmed.2004.11.01
- Maier, G. U., Love, W. J., Karle, B. M., Dubrovsky, S. A., Williams, D. R., Champagne, J. D., & Aly, S. S. (2019). Management factors associated with bovine respiratory disease in preweaned calves on California dairies: The BRD 100 study. *Journal of dairy science*, 102(8), 7288-730. doi:10.3168/jds.2018-14773

- Marcato, F., Van Den brand, H., Kemp, B., Engel, B., Wolthuis-Fillerup, M., & Van Reenen, K. (2020). Effects of pre transport diet, transport duration, and type of vehicle on physiological status of young veal calves. *Journal of dairy science*, v. 103, n. 4, p. 3505-3520. doi:10.3168/jds.2019-17445
- Mcguirk S. M. (2008). Disease management of dairy calves and heifers. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, n. 24, n. 1, p. 139 - 153. doi:10.1016/j.cvfa.2007.10.003
- Medrano-Galarza, C., Leblanc, S.J., Devries, T.J., Jones-Bitton, A., Rushen, J., De Passillé, A. M., & Haley, DB. (2017). Producer perceptions of manual and automated milk feeding systems for dairy calves in Canada. *Journal of Dairy Science*, v. 100, n. 8, p. 6872-6884. doi:10.1139/cjas-2017-0038
- Palczynski, L. J., Bleach, E. C. L., Brennan, M. L., Robinson, P. A. (2021). Stakeholder perceptions of disease management for dairy calves: “it’s just little things that make such a big difference”. *Animals*, v. 11, n. 10, p. 28-29. doi:10.3390%2Fani11102829
- Paranhos Da Costa, M. J. R., & SILVA, L. C. (2014). *Boas práticas de manejo–bezerros leiteiros*.
- Reboita, M., Krusche, N. (2018). Normais Climatológicas Provisórias de 1991 a 2010 para Rio Grande, RS. *Revista Brasileira de Meteorologia*, v. 33, p. 165- 179. doi:10.1590/0102-7786331010
- Reece, WO, Erickson, HH, Goff, JP, & Uemura, EE (Eds.). (2015). *Fisiologia dos animais domésticos de Dukes*. John Wiley & Filhos
- Santos, J. A. (2013). Aleitador automático facilita criação. *Revista Balde Branco*, p. 40-42. doi:10.31533/pubvet.v13n2a270.1-9
- Sapolsky, R. M., Romero, M. L., Munck, A. U. (2000). How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrinology*, v. 89, p. 21-55. doi: 10.1210/edrv.21.1.0389
- Soberon, F., Raffrenato, E., Everett, R. W., Van Amburgh, M. E. (2012). Prewaning milk replacer intake and effects on long-term productivity of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, v. 95, n. 2, p. 783-793. doi: 10.3168/jds.2011-4391
- Soberon, F., Van Amburgh, M. E. (2013). LACTATION BIOLOGY SYMPOSIUM: The effect of nutrient intake from milk or milk replacer of preweaned dairy calves on lactation milk yield as adults: A meta-analysis of current data. *Journal of Animal Science*, v. 91, p. 706–712. doi:10.2527/jas.2012-5834
- Svensson, C., Lundborg, K., Emanuelson, U., & Olsson, S. O. (2003). Morbidity in Swedish dairy calves from birth to 90 days of age and individual calf-level risk factors for infectious diseases. *Preventive veterinary medicine*, v. 58, n. 3-4, p. 179-197. doi:10.1016/s0167-5877(03)00046-1
- Tyler, J. W., Hancock, D. D.; THORNE, J. G.; GAY, C. C.; GAY J. M. Partitioning the mortality risk associated with inadequate passive transfer of colostral immunoglobulins in dairy calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 13, p. 335–337, 1999. doi:10.1892/0891-6640
- Usda, (2017). Dairy 2014. Health and Management Practices on U.S. *Dairy Operations*. USDA–APHIS–VS–CEAH–NAHMS. Fort Collins, CO. In press.

Windeyer, M. C., Leslie, K. E., Godden, S. M., Hodgins, D. C., Lissemore, K. D. & Leblanc, S. J. (2014). Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age. *Preventive veterinary medicine*, v. 113, n. 2, p. 231-240. doi: 10.1016/j.prevetmed.2013.10.019

Table 1: Morbidity, mortality, lethality and recurrence of diarrhea and bronchopneumonia in Holstein calves maintained in individual or collective housing systems in the extreme south of Brazil.

Parameter	Groups		<i>p</i>
	Collective	Individual	
Morbidity for diarrhea %	20.0 (10/50)	50.0 (25/50)	<0.05

Morbidity for bronchopneumonia %	92.0 (46/50)	74.0 (37/50)	<0.05
Mortality for diarrhea %	0.0 (0/50)	2.0 (1/50)	0.31
Mortality for bronchopneumonia %	2.0 (1/50)	6.0 (3/50)	0.31
Lethality for diarrhea %	0 (0/10)	0.4 (1/25)	0.85
Lethality for bronchopneumonia%	0.2 (1/46)	0.8 (3/37)	0.46
Recurrence for diarrhea %	20.0 (2/10)	60.0 (15/25)	<0.05
Recurrence for bronchopneumonia %	52.2 (24/46)	64.9 (24/37)	0.24

Table 2: Metabolic parameters (mean $\pm$ standard error) of Holstein calves maintained in individual or collective housing systems in the extreme south of Brazil.

Parameter	Groups		<i>p</i>
	Collective	Individual	
Glucose (mg/dL)	71.58 $\pm$ 1.86	91.66 $\pm$ 1.84	<0.05
Total Calcium (mg/dL)	8.35 $\pm$ 0.25	6.60 $\pm$ 0.25	<0.05
FFA (mmol/L)	0.19 $\pm$ 0.015	0.27 $\pm$ 0.014	<0.05
BHBA (mmol/L)	0.06 $\pm$ 0.004	0.10 $\pm$ 0.003	<0.05

FFA, free fatty acids

BHBA, β -hydroxybutyrate

Table 3: Zootechnical evaluations (mean $\pm$ standard error) of Holstein calves maintained in individual or collective housing systems in the extreme south of Brazil.

Parameter	Groups		<i>p</i>
	Collective	Individual	
Height at the withers	80.53 $\pm$ 0.17	82.68 $\pm$ 0.18	<0.01

Thoracic perimeter	86.57 ± 0.22	85.10 ± 0.22	<0.01
Rump width (cm)	21.80 ± 0.13	23.46 ± 0.13	<0.01

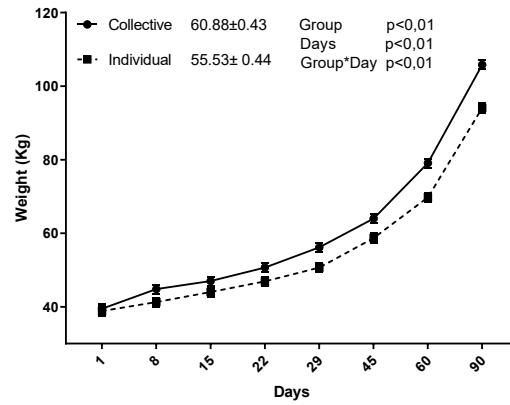


Figure 1: Body weight (Kg) of Holstein calves reared in different systems for 90 days after birth. Data are presented as mean $\pm$ standard error.

2 Artigos

2.2 Artigo 2

Ultra-diluted products for disease prevention and improved metabolism and development in Holstein calves

Rltieli dos Santos Teixeira; Karen Freitas; Gustavo Felipe da Silva Sousa; Uriel Secco Londeiro; Antônio Amaral Barbosa; Eliza Rossi Komimnou; Carla Augusta Sassi da Costa Garcia; Francisco Augusto Burkert Del Pino; Viviane Rohrig Rabassa; Marcio Nunes Corrêa

Será submetido à revista Tropical Animal Health and Production

Ultra-diluted products for disease prevention and improved metabolism and development in Holstein calves

Riteli dos Santos Teixeira¹; Karen Freitas²; Gustavo Felipe Da Silva Sousa¹; Uriel Secco Londeiro¹; Antônio Amaral Barbosa³; Eliza Rossi Komimnou¹; Carla Augusta Sassi Da Costa Garcia¹; Francisco Augusto Burkert Del Pino; Viviane Rohrig Rabassa;

Marcio Nunes Corrêa⁵

¹*Federal University of Pelotas, Department of Veterinary Clinical Medicine, Capão do Leão, RS, Brazil*

* Corresponding author.

E-mail address: rititeixeira@hotmail.com (R. S. Teixeira)

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effects of an ultra-diluted product on the zootechnical parameters, incidence of diseases, and metabolic profile of Holstein calves. Immediately after birth, 100 Holstein calves were included in the experiment and monitored for 208 days. Calves were divided into the Homeopathy group (HP; n=50) which received a homeopathic product (Top Vita P®, Real H, Cuiabá – MT, Brazil) until weaning according to the manufacturer's recommendation (10 mL, oral, composition: *Caladium* 15 CH + *Ferrum metallicum* 9 CH + *Rhipicephalus microplus* 9 CH, *Colibacillinum* 9 CH, *China officinalis* 15 CH, *Mercurius vivus* 7 CH, *Podophyllum peltatum* 15 CH, *Antimonium tartaricum* 7 CH, *Kali bichromicum* 8 CH, *Ferrum phosphoricum* 6 CH, *Bryonia alba* 6 CH, *Ficus religiosa* 6 CH, vehicle). The animals continued receiving the product for 4 months after weaning. In this period the product was provided as a powder in feed (composition: *Caladium* 15 CH + *Rhipicephalus microplus* 9 CH,

Ferrum metallicum 9 CH; *Ficus religiosa* 6 CH, *China officinalis* 6 CH, *Sulfur iodatum* 6 CH, *Spigelia anthelmia* 9 CH, *Cina anthelminthica* 9 CH, *Zincum oxidatum* 6 CH, *Viola tricolor* 6 CH, *Tellurium* 6 CH, *Saponaria* 9 CH, vehicle) and were supplemented with 30 g of Top dress. The control group (n=50) received 10 mL of water orally through a syringe until weaning to simulate the procedure for animals in the HP group. The animals were housed in individual stalls for 20 days, receiving 8 L of milk/day and then transferred to a group housing system. An automated feeding system was used until weaning, which occurred gradually at 90 days. During this period, calves also received concentrate *ad libitum*. After weaning, animals were transferred to a pickets receiving feed and ryegrass hay. Zootechnical parameters (weight, rump width, height at withers and thoracic perimeter) and blood samples were obtained weekly in the first 28 days after birth, once every two weeks until weaning, and every 15 days until 4 months post weaning. The metabolic parameters evaluated were: total plasma protein (TPP), magnesium (Mg), urea, total calcium (Ca_t), glucose, nonesterified fatty acids (NEFA), β -hydroxybutyrate (BHBA), albumin (ALB), globulin (GLO) and sorbitol dehydrogenase (SDH). Animals in the HP group had increased height at withers and rump width compared to those in the CON group ($p < 0.01$). However, weight (kg) and thoracic perimeter were similar between groups ($p > 0.05$). Furthermore, the HP group had higher serum concentrations of TPP, Mg, Ca_t, and ALB ($p < 0.05$). Animals in the HP group exhibited a lower morbidity due to bronchopneumonia ($p < 0.01$), however, lethality, mortality, recurrence, and morbidity due to diarrhea were not different ($p > 0.05$). HP supplementation improved zootechnical parameters, decreased the incidence of bronchopneumonia and serum concentrations of TPP, MG, Ca_t, ALB and GLO that that impacted the development of its body.

Keywords: bronchopneumonia; dairy calves; diarrhea; suckling; prevention of diseases; homeopathy.

Introduction

Proper calf rearing is a key for the dairy farm success since it is critical to the future replacement of lactating cows. Therefore, constant monitoring of female dairy calves is essential, and the occurrence of disease early-on has significant impacts for the animals, including poor development, weight gain and productivity, which can lead to economic losses for the dairy systems (Fruscalso, 2018; Ferrari, 2019). The transfer of passive immunity should be provided as well as suitable nutrition. Therefore, the management after weaning is critical to ensure optimum productivity in the adult animal (Hulbert & Moisé, 2016; Martins, 2016; Aghakeshmiri *et al.*, 2017; Caixeta, 2020).

Even though progress has been made in disease control, early diagnostic remains a challenge, which prevents adequate individualized treatment. Furthermore, indiscriminate use of antimicrobials is a recurrent problem in dairy farms. In 2020, Brazil was among the five countries that most use antibiotics (Mulchandani *et al.*, 2023). This contributes to the rise of bacterial drug-resistance to a wide range of antimicrobials (Amber *et al.*, 2017), which hinders the success of antimicrobial therapies. Therefore, alternatives to prevent infection have been developed, aiming to minimize antimicrobial resistance, as well as the costs associated with disease and treatments (Oliver, 2011; Spelberg, 2011; Ballou, 2019; Scaldaferrri, 2020).

Homeopathy has been used in dairy herds as an alternative to conventional products to treat and prevent diseases (Tomanić *et al.*, 2023). They are composed mainly from natural substances, such as plant products, minerals, or animal sources, as well as ultra-diluted and dynamized nosodes and sarcodes, according to the homeopathy pharmacopeia (Farmacopeia Homeopática Brasileira, 2011). Homeopathy is proposed as a preventative therapy which could enhance animal's performance in an economic and sustainable manner (Løken, 2002). Many studies have described the use of homeopathy in dairy herds, mainly for the treatment of mastitis (Doehring EeSundrum, 2016; Mathie e Clausen, 2015) and diarrhea,

considering the immunostimulatory effects of homeopathy (Fortuoso *et al.*, 2018). Nonetheless, few studies have demonstrated the efficacy of homeopathic products considering that the mechanism of action remains unknown, which reduces the use of these alternatives in the livestock industry (Doehring & Sundrum, 2016; Oliveira Filho *et al.*, 2007; Persson, 1998; Tomanić *et al.*, 2023).

Thus, we hypothesized that an ultra-diluted product modulates metabolism and the immune response, decreasing the occurrence of diseases and improving growth of dairy calves. The aim of this study was to evaluate the effect of an ultra-diluted product on the growth, disease occurrence, and metabolic profile of female Holstein calves.

Materials and Methods

Experimental group and housing

This study was approved by the Ethics Committee for Animal Experimentation of the Universidade Federal de Pelotas (project number 015424/2021-60). The experiment was conducted in a dairy farm located in Rio Grande, RS, Brazil (32° 16 'S, 52° 32' E). Calves were born in a compost barn and housed separately from the dams immediately after birth. Calves were bottle-fed colostrum during the first few hours after birth, and the colostrum quality was verified using a Brix refractometer (RZ-117, LABShop, Salvador, Brazil) (Godden *et al.*, 2019; Lombard, 2020), and the minimum quality was set to 22%. Calves were housed individually for 20 days and then transferred to a group housing system with one animal per 3 m². Feeding was carried out using an automatic milk feeder (Calffeder, DeLaval. São Paulo - Brazil).

Calves received 8 L of milk/day from 0 to 20 days, *ad libitum* from 20 to 40 days, 8 L/day from 40 to 60 days, and were gradually weaned from 60 to 90 days. Calves also received concentrate, ryegrass hay and water *ad libitum* throughout the entire rearing period (Table 4).

Blood samples were obtained 24–48 h after birth through jugular vein puncture using a vacuum tube containing EDTA. Plasma was separated by centrifugation to measure the transfer of passive immunity using a Brix refractometer (RZ-117, LABShop, Salvador, Brazil). All calves exhibited values of 8.9–9.4% brix which were considered adequate (Godden *et al.*, 2019; Lombard, 2020).

We selected 100 female calves and randomly divided them into two groups. The homeopathy (HP, n=50) group received a homeopathic liquid product, through a syringe (Top Vita P[®], Real H, Cuiabá – MT, Brazil) until weaning according to the manufacturer's recommendation (10 mL, oral, oral, once a day, composition: *Caladium* 15 CH + *Ferrum metallicum* 9 CH + *Rhipicephalus microplus* 9 CH, *Colibacillinum* 9 CH, *China officinalis* 15 CH, *Mercurius vivus* 7 CH, *Podophyllum peltatum* 15 CH, *Antimonium tartaricum* 7 CH, *Kali bichromicum* 8 CH, *Ferrum phosphoricum* 6 CH, *Bryonia alba* 6 CH, *Ficus religiosa* 6 CH, vehicle), the product was administered from birth to weaning. The control group (n=50) received 10 mL of water orally through a syringe until weaning to simulate the procedure for animals in the HP group.

The animals continued receiving a homeopathic product for 4 months after weaning. In this period the product was provided as a powder oral, once a day in the feed (30 g, composition: *Caladium* 15 CH + *Rhipicephalus microplus* 9 CH, *Ferrum metallicum* 9 CH; *Ficus religiosa* 6 CH, *China officinalis* 6 CH, *Sulfur iodatum* 6 CH, *Spigelia anthelmia* 9 CH, *Cina anthelminthica* 9 CH, *Zincum oxidatum* 6 CH, *Viola tricolor* 6 CH, *Tellurium* 6 CH, *Saponaria* 9 CH, vehicle).

Blood samples and metabolic evaluations

Blood samples were collected in the morning through jugular vein puncture using a vacuum tube with and without anticoagulant (potassium fluoride). Blood samples were obtained from 20 animals in each group 24–48 h after birth. Subsequently, samples were

obtained weekly during the first 28 days, once every two weeks until weaning, and monthly until 4 months after weaning.

Samples were centrifuged to separate the serum and stored in an ultra-freezer. The following parameters were measured: total calcium, total plasma protein, albumin, magnesium, β -hydroxybutyric acid (BHBA), free fatty acids (FFA), urea, globulin, and sorbitol dehydrogenase (SDH). Serum samples with potassium fluoride were used to measure glucose. All the analyses were performed using a biochemical analyzer (Labmax Plenno, Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa – MG, Brazil) and commercial kits according to the manufacturer's instructions (Diasys, Holzheim, Germany and Labtest, Lagoa Santa – MG, Brazil). Globulin was determined by subtracting albumin values from total protein values (COLES, 1984).

Monitoring of diseases

Calves were clinically evaluated daily to detect diarrheal diseases and bronchopneumonia. To diagnose diarrhea, clinical signs such as fever, inappetence, dehydration, and altered fecal consistency score (Lorenz *et al.*, 2011). The fecal consistency score was classified in a 0–4 scale (0 = normal, 1 = pasty, 2 = liquid, 3 = profuse liquid, and 4 = profuse liquid with blood) (Adapted from Kert & Chester-Jones, 2004). Animals exhibiting fecal consistency scores from 2–4 were diagnosed with diarrhea. To diagnose bronchopneumonia clinical signs such as cough, nasal and ocular secretions, dyspnea, and alterations in breath sounds were evaluated (Peek & Ollivett, 2018).

The following indices were calculated based on these analyses: morbidity (number of sick animals/total number of animals), mortality (number of deceased animals/total number of animals), lethality (number of deceased animals/total number of sick animals), recurrence (number of animals falling ill twice/number of animals falling ill at least once). Treatments

were provided according to each clinical case and the protocol established in the property by the veterinarian.

Diarrhea was considered upon detection of fecal consistency score of 2 or above and days in diarrhea were recorded until fecal consistency returned to score 0 or 1. The number of days that calves exhibited diarrhea was considered to determine non-infectious and infectious diarrhea during the initial 30 days after birth.

Zootechnical parameters

Animals were evaluated at birth and then weekly for 30 days after birth and biweekly for 4 months after weaning. The body weight was evaluated using a weighing tape for large animals which measures of the thorax circumference (Heinrichs *et al.*, 1992). This data was used to calculate the average daily weight gain [(final weight – initial weight)/ time in days]. Furthermore, the rump width, and Thoracic perimeter were determined using a measuring tape. The height at withers was determined using a ruler (cm). Thoracic perimeter was measured as the circumference of the thorax, height at the withers was the length from the ground to the scapular junction in a standing animal, and rump width was the length between the ischial tuberosities (Reis *et al.*, 2008).

Statistical analysis

Data were analyzed using SAS (SAS Institute Inc., Cary, EUA). The means were analyzed using the mixed models method considering the animal, group, time, and there interactions. The means were compared through the Tukey-Kramer test. The correlation between variables was established using Pearson's correlation coefficient. Categorical variables were evaluated using the Chi-square test. Statistical significance was considered when $p < 0.05$.

Results

The brix variable was similar between groups in the evaluation of the transfer of passive immunity ($9.5 \pm 1.44\%$ and $9.5 \pm 0.91\%$ for HP group and control, respectively, $p=0.99$). Disease occurrence during the entire experimental period is described in Table 1. Overall, morbidity due to bronchopneumonia was lowest in the HP group than in the control ($p<0.01$). Nevertheless, morbidity due to diarrhea was similar on the entire experimental period (208 days; $p=0.37$). There was not cases of lethality, mortality, and recurrence of diarrhea.

Table 1: Disease occurrence in female Holstein calves receiving the ultra- diluted product before and after weaning (208 days).

Parameter	Groups		<i>p</i> values
	CON (n)	HP (n)	
Morbidity for diarrhea %	20.0 (10/50)	18.0 (9/50)	0.37
Morbidity for bronchopneumonia %	92.0 (46/50)	66.0 (33/50)	<0.01
Lethality for bronchopneumonia %	6.5 (3/46)	15.1 (5/33)	0.21
Mortality for bronchopneumonia %	6.0 (3/50)	10.0 (5/50)	0.46
Recurrence for bronchopneumonia %	52.1(24/46)	57.6 (19/33)	0.63

CON= control; HP= homeopathy; n= number of animals

The fecal consistency score was used to determine the period that each group had diarrhea (score ≥ 2) during the first 30 days after birth, however there was no differences between groups (4.32 ± 0.47 in the control and 3.48 ± 0.47 in the HP group, $p=0.21$).

The mean ($\pm$ standard deviation) initial weight was similar between groups (39.47 ± 0.73 in the control and 40.38 ± 0.73 in the HP group, $p=0.77$). Significant differences were noted between groups in the following zootechnical parameters: rump width ($p<0.01$) and height at withers ($p<0.01$; Table 1). The remaining zootechnical parameters were similar between groups ($p>0.05$).

Table 2: Zootechnical parameters of female Holstein calves receiving the ultra-diluted product from birth to 208 days.

Parameter	Group				<i>p</i> values		
	CON		HP		Group	Sample	Group*sample
	Mean	SEM	Mean	SEM			
Height at withers (cm)	87.48	0.22	88.21	0.22	<0.01	<0.01	0.39
Rump width (cm)	25.97	0.13	26.68	0.13	<0.01	<0.01	0.59
Thoracic perimeter (cm)	98.22	0.30	98.02	0.31	0.55	<0.01	0.39
Weight (Kg)	93.09	0.65	93.96	0.67	0.12	<0.01	1.00
Weight gain pre-weaning (0-90 d)	0.76	0.02	0.76	0.02	0.85	<0.01	0.96
Weight gain post-weaning(91-208 d)	0.62	0.04	0.61	0.04	0.79	<0.01	0.85

SEM=Standard error of the mean; CON= control; HP= homeopathy.

The HP group had greater TPP, albumin, globulin, calcium, and magnesium levels than CON group ($p<0.05$). There was no difference between groups in the others metabolic parameters (Table 3).

Table 3: Metabolic parameters of female Holstein calves receiving the ultra-diluted product from birth to 208 days.

Parameter	Groups				<i>p</i> values		
	Control		HP		Group	Sample	Group* Sample
	Mean	SEM	Mean	SEM			

Glucose	67.15	1.28	69.00	1.28	0.30	<0.01	0.97
(mg/dL)							
FFA(mmol/L)	0.36	0.10	0.17	0.10	0.69	<0.01	0.52
BHBA(mmol/L)	0.13	0.00	0.14	0.00	0.35	<0.01	0.72
Albumin (g/dL)	1.81	0.06	1.96	0.06	<0.01	0.47	0.26
Globulin (g/dL)	3.00	0.15	4.21	0.16	<0.01	<0.01	0.03
Urea (g/dL)	21.59	0.49	21.22	0.49	0.50	<0.01	0.50
TPP (g/dL)	5.16	0.016	5.88	0.16	<0.01	<0.01	0.73
Calcium	8.63	0.22	9.72	0.21	<0.05	<0.01	0.95
(mg/dL)							
Magnesium	1.54	0.06	1.72	0.06	<0.01	0.04	0.87
(mg/dL)							
SDH (mg/dL)	6.32	1.44	6.75	1.43	0.83	0.24	0.97

SEM=Standard error of the mean; CON= control; HP=homeopathy.

*BHBA- β -hydroxybutyric acid; * SDH-Sorbitol dehydrogenase; *FFA- free fatty acids;

The average milk consumption was similar between groups at 20–90 days old (control, 5.72 kg/day; HP group, 5.65 kg/day; $p>0.05$).

Discussion

Respiratory diseases in young bovine are a significant challenge in the dairy livestock industry (Love *et al.*, 2014; Handan & Umit, 2018). Morbidity and mortality can reach up to 75% and 50%, respectively (Rodriguez *et al.*, 2017). In our study, homeopathy effectively reduced the incidence of bronchopneumonia during the entire experimental period. Nonetheless, Silva *et al.* (2021) used a similar product in calves before and after weaning and found no differences in for respiratory disease. The mechanism of action of the homeopathic

products has not been elucidated (Doehring & Sundrum, 2016), despite there being evidence of the effectiveness of human and veterinary homeopathy (Weiermayer *et al.*, 2021). However, studies made in humans have shown the efficacy of certain compounds against respiratory diseases (Thapa *et al.*, 2022; Egisto, 2014). Mishra *et al.* (2011) suggest that homeopathic formulations act through an electromagnetic effect in the central nervous system, although current studies highlight the need for further research to determine the mechanism of action of homeopathic therapies (Mathie & Clausen 2014, 2015; Magar *et al.*, 2018; Weiermayer *et al.*, 2021). The incidence of diarrhea in our study was surprisingly low considering that it can reach 100% during the first month after birth (Carvalho *et al.*, 2014; Dcha, 2016). This result could be related to an adequate passive immunity transfer found in our study. A study employing a similar product showed that the components *Colibacillinum*, *Mercurius dulcis*, *Chinchona officinalis*, *Enterococcinum*, *Podophylum peltatum* e *Colocynthis* diluted at a centesimal scale reduced the incidence of diarrhea (Silva *et al.*, 2021).

The animals in the group that received homeopathic treatment, despite having the same milk intake as the control group, had a higher concentration of calcium and magnesium in the blood. These minerals play a crucial role in the immune system. The increase in calcium concentrations affects the synthesis of acute-phase proteins, and the increased bioavailability of calcium promotes animal health (Feijó *et al.*, 2017), aligning with the findings of our study for the group that received homeopathic treatment

Additionally, the increase in magnesium enhances calcium absorption, also influencing the immune system (Littledike *et al.*, 1983; Rude, 1998). Moreover, this group showed higher concentrations of globulin, possibly related to increased antibody production, as globulins are linked to the immune conditions of the organism (Eckersall, 2008). Thus, the lower incidence of bronchopneumonia among the animals in the homeopathy-treated group may be associated with the higher concentrations of calcium and magnesium in these animals.

For these diseases, determining the energetic and protein profile is essential to assess disease progression, therapeutic options, and prognosis in neonates (Silva, 2019; Freitas, 2010).

A total plasma protein reflects the combination of albumin and globulins (Meyer & Harvey, 2004), which are synthesized in the liver (Prado *et al.*, 2019). The concentration of these proteins in the blood varies due to various factors, including dehydration, nutrition, and inflammation (Hammon & Donkin, 2002; Leal *et al.*, 2003). Low levels of albumin, globulin, and magnesium are likely associated with susceptibility to inflammatory processes (Bussiere *et al.*, 2002).

Additionally, the increase in mineral concentrations, improved protein profile, and lower incidence of diseases may be correlated with the better zootechnical performance observed in the group that received the homeopathic product. The difference in hip width and withers height, as demonstrated in our study, is consistent with the findings of Silva *et al.* (2021). However, Signoretti *et al.* (2013) did not identify differences in the zootechnical development of calves with or without homeopathic supplementation, using a different homeopathic product. On the other hand, Martins *et al.* (2021) obtained similar results to ours when employing the same product. It is important to note that the product was administered only during the nursing period in Martins *et al.*'s study, while in our research, the animals were supplemented during both the nursing and post-weaning periods.

The data in this study revealed that animals treated with homeopathy had less bronchopneumonia, as well as increased rump width and thoracic perimeter, even though food consumption was similar between groups. Therefore, it can be inferred that the animals that received homeopathic products were more efficient in terms of feeding and metabolism.

Conclusion

The ultra-diluted product in this study was able to reduce the incidence of bronchopneumonia and also improved the mineral and protein metabolism and the growth of calves before and after weaning.

References

Amber, R.; Adnan M.; Tariq, A.; Khan, S.N.; Mussarat, S.; Hashem, A.; Al-Huqail, A.A.; Al-Arjani A-B. F.; Allah, E.F.A. *et al.*, 2018. Antibacterial activity of selected medicinal plants of northwest Pakistan traditionally used against mastitis in livestock. *Saudi, Journal of Biological Sciences*, 25(1), 54-161.

Ballou, M.A.; Davis, E.M.; Kasl, B.A., 2019. Nutracêuticos: uma estratégia alternativa para o uso de antimicrobianos. *Clínicas Veterinárias: Prática Alimentar Animal*, 35(3), 507-534.

Bussiere, F.; Gueux, E.; Rock, E.; Girardeau, J.; Tridon, A.; Mazur, A.; Rayssiguier, Y., 2002. Aumento da fagocitose e produção de espécies reativas de oxigênio por neutrófilos durante a deficiência de magnésio em ratos e inibição por alta concentração de magnésio. *Journal of Nutrition*, 87, 107-113.

Carvalho, J.G.; Carvalho, A.U.; Heinemann, M.B.; Coelho, S.G.; Paes, P.R.O.; Moreira, G. H.F.A.; Vespasiano, L.C.; Facury Filho, E.J., 2014. Estudo longitudinal da infecção por enteropatógenos em bezerros neonatos, com diarreia, sob diferentes estratégias de aleitamento. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 34, 529–536.

Da Silva, L.G.C.; Cavazini, I.M.; Feijó, J.O.; Corrêa, M.N.; Del Pino, F.A.B.; Rabassa, V.R., 2019. Enrofloxacin de rápida ação em associação a fluidoterapia endovenosa e oral no tratamento de diarreia neonatal bovina. *Ciência Animal Brasileira / Brazilian Animal Science*, 20, 1–10. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/vet/article/view/46291>. Acesso em: 14/04/2023.

- 282 Dairy Calf & Heifer Association- DCHA. Performance and production standards established
283 for Holstein calves, from birth to 6 months of age, across the United States. Dairy Calf & Heifer
284 Association Gold Standards II 24p. 2016.
- 285 Doebling, C.; Sundrum, A., 2016. Eficácia da homeopatia em vida estoque de acordo com
286 publicações revisadas por pares de 1981 a 2014. Vet. Gravando, 179, 628.
- 287 Garcia, C.A.S.C.; Barbosa, A.A., Silveira, R.; Freitas, K.C.; Corrêa, M.N.; Brauner, C.C.; Del
288 Pino, F.A.B.; Rabassa, V.R., 2021. Efeito da ocorrência de broncopneumonia em parâmetros
289 metabólicos e zootécnicos de bovinos leiteiros neonatos. Brazilian Journal of Development,
290 7(5),50433-50443.
- 291 Egisto, E., 2014. Medicamentos homeopáticos de A a Z: Sintomas de A a Z, 2014.
- 292 ECKERSALL, P.D., 2008. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias J. Kaneko, J. Harvey,
293 M. Bruss (Eds.), Clinical Biochemistry of Domestic Animals (6th ed.), Academic Press, 117-
294 155.
- 295 Farmacopéia Homeopática Brasileira. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2011. 364p. Disponível em:
296 <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/259147/3a_edicao.pdf/cb9d5888-6b7c-](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/259147/3a_edicao.pdf/cb9d5888-6b7c-447bbe3c-af51aae7ea8)
297 [447bbe3c-af51aae7ea8](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/259147/3a_edicao.pdf/cb9d5888-6b7c-447bbe3c-af51aae7ea8). Acesso em: 28 agosto 2023.
- 298 Ferrari, L.F.; Menin, Á., 2019. Doenças respiratórias em bezerros: relato de caso. 2019.
299 Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)- Graduação em Medicina Veterinária, Universidade
300 Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2019. 39f.
- 301 Fruscalso, V., 2018. Fatores associados à morbidade, à mortalidade e ao crescimento de
302 bezerras leiteiras lactantes. Tese (Doutorado) - Programa de Pós Graduação em
303 Agroecossistemas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018. 159f.

- 304 Francoz, D.; Wellemans, V.; Dupré, J.P.; Roy, J.P.; Labelle, F.; Lacasse, P.; Dufour, S., 2017.
 305 Invited review: A systematic review and qualitative analysis of treatments other than
 306 conventional antimicrobials for clinical mastitis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*,
 307 100(10), 7751-7770. doi: 10.3168/jds.2016-12512. Epub 2017 Jul 26. PMID: 28755947.
- 308 *Farmacopeia Homeopática Brasileira*, 3ª Edição, São Paulo, Editora Andrey, 2011.
- 309 Handan, H.A.; Umit, O., 2018. Abordagem atual da doença respiratória bovina. *Veterinário de*
 310 *Laticínios. Science Journal.* v.5, n.2, p.555658–555660, 2018.
- 311 Hötzel, M.J.; Longo, C.; Balcão, L.F.; Cardoso, C.S.; Costa, J. H. C., 2014. A survey of
 312 management practices that influence performance and welfare of dairy calves reared in southern
 313 Brazil. *PLoS One*, 9(12), 114995.
- 314 Leal, L.N.; Doelman, J.; Keppler, B.R.; Steele, M.A.; Martín-Tereso, J., 2021. Prewaning
 315 nutrient supply alters serum metabolomics profiles related to protein and energy metabolism
 316 and hepatic function in Holstein heifer calves. *Journal of Dairy Science*, 104(7), 7711-7724.
- 317 Littledike, E.T.; Goff, J., 1987. Interactions of calcium, phosphorus, magnesium and vitamin
 318 D that influence their status in domestic meat animals. *Journal Animal Science*, 65, 1727–1743.
- 319 Love, W.J.; Lehenbauer, T.W.; Kass, P.H.; Van Eenennaam, A.L.; Aly, S.S., 2014.
 320 Development of a novel clinical scoring system for on-farm diagnosis of bovine respiratory
 321 disease in pre-weaned dairy calves. *PeerJ*, 2, 238.
- 322 Løken, T., 2002. Alternative therapy of animals—homeopathy and other alternative methods of
 323 therapy. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 43, 1–4.
- 324 Martins, M.M., 2021. Efeito de um composto homeopático sobre o desempenho, saúde e
 325 sistema imune de bezerras no período de aleitamento. 2021. Dissertação (Mestrado) –
 326 Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2021. Disponível em:

- 327 <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/74/74131/tde-26102021-113517/>. Acesso em:
328 10/04/2023.
- 329 Mathie, R.T.; Clausen, J., 2015. Veterinary homeopathy: meta-analysis of randomised
330 placebo-controlled trials. *Homeopathy*. p.104, 2015.
- 331 Mathie, R.T.; Clausen, J., 2014. Veterinary homeopathy: systematic review of medical
332 conditions studied by randomised placebo-controlled trials. *Veterinary Record*, 175, 373–81.
- 333 Mulchandani, R.; Wang, Y.; Gilbert, M.; Van Boeckel, T.P., 2023. Global trends in
334 antimicrobial use in food-producing animals: 2020 to 2030. *PLOS Global Public Health*, 3(2),
335 e0001305.
- 336 Oliver, S. P.; Murinda, S.E.; Jayarao, B. M., 2011. Impact of antibiotic use in adult dairy cows
337 on antimicrobial resistance of veterinary and human pathogens: A comprehensive review.
338 *Foodborne Pathogens and Disease*, 8, 337–355.
- 339 Prado, J.O.R.; Morales B., Molinaj.O., García.L.M., Macedor.B., Hernández J.R., García A.C.,
340 2019. Relationship between biochemical analytes and milk fat/protein in Holstein cows, *Austral*
341 *Journal of Veterinary Sciences*, 51.
- 342 Peek, S. F.; Ollivett, T. L.; Divers, T.J., 2018. *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle*. 2018.
- 343 Qi, Y.; Zhao, X.; Huang, D.; Pan, X.; Yang, Y.; Zhao, H.; Hu, H.; Cheng, G., 2018. Exploration
344 of the Relationship between Intestinal Colostrum or Milk, and Serum Metabolites in Neonatal
345 Calves by Metabolomics Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66, 7200-7208.
- 346 Reis, G.L.; Albuquerque, F.H.M.A.R.; Valente, B.D.; Martins, G.A.; Teodoro, R.L.; Ferreira,
347 M.B.D.; Madalena, F.E., 2008. Predição do peso vivo a partir de medidas corporais em animais
348 mestiços Holandês/Gir. *Ciência Rural*, 38(3), 778–783.

- 349 Rodríguez-Castillo, J.L.; Valencia, G.L.; Navarro, F.J.M.; Basulto, G.E.M.; Hori-Oshima, S.;
 350 Cueto-González, S.A.; Rentería-Evangelista, T.B., 2017. Detection and economic impact
 351 related to bovine respiratory disease, shrink, and traveling distance in feedlot cattle in Northwest
 352 Mexico. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 41(2), 294-301.
- 353 Rude, R.K., 1998. Magnesium deficiency: A cause of heterogeneous disease in humans. *Journal*
 354 *of Bone Mineral Research*, 13, 749–758.
- 355 Silva, T.H.; Guimarães, I.C.S.B.; Martins, M.M., Netto, A.S., 2021. Uso profilático de um
 356 complexo ultradiluído na saúde, metabolismo e desempenho de bezerros holandeses
 357 desmamados e seu efeito de transferência até a primeira lactação. *Journal of Dairy*
 358 *Science*, 104 (12), 12912-12924.
- 359 Spellberg, B., M.; Blaser, R. J.; Guidos, H. W.; Boucher, J. S.; Bradley, B. I.; Eisenstein, D.;
 360 Gerding, R.; Lynfield, L. B.; Reller, J.; Rex, D.; Schwartz, E.; Septimus, F.C., Tenover Gilbert,
 361 D. N., 2011. Combating antimicrobial resistance: Policy recommendations to save lives.
 362 *Clinical Infectious Diseases*, 52(5), 397–428.
- 363 Thapa, C.B.; Bhattarai, H.D.; Pant, K.K.; Joshi, P.R.; Chaudhary, T.L.; Pant, B., 2023. Efeito
 364 antioxidante, antibacteriano e citotóxico de calo in vitro e rizoma in vivo de *Paris polyphylla*
 365 *Sm.* *Process Biochemistry*, 124, 33-43.
- 366 Tomanić, D.; Samardžija, M.; Kovačević, Z., 2023. Alternatives to Antimicrobial Treatment in
 367 *Bovine Mastitis Therapy: A Review. Antibiotics*, 12(4), 683.
- 368 Weiermayer, P., Frass, M., Peinbauer, T., Ellinger, L., & De Beukelaer, E., 2022. Evidence-
 369 Based Human Homeopathy and Veterinary Homeopathy. Comment on Bergh *et al.* A
 370 Systematic Review of Complementary and Alternative Veterinary Medicine: “Miscellaneous
 371 Therapies”. *Animals*, 12(16), 2097.

2 Artigos

2.3 Artigo 3

Efeito da proteína protegida na dieta de vacas da raça holandês sobre parâmetros metabólicos, produção e composição do leite

Riteli dos Santos Teixeira; Rutiele da Silveira; Wesley Silva da Rosa; Gustavo Felipe da Silva Sousa; Uriel Secco Londero; Francisco Augusto Burkert Del Pino; Viviane Rohrig Rabassa; Marcio Nunes Corrêa.

Será submetido à revista Journal of Dairy Research

Efeito da proteína protegida na dieta de vacas da raça holandês sobre parâmetros metabólicos, produção e composição do leite

Riteli dos Santos Teixeira^{1*}; Rutiele da Silveira¹; Wesley Silva da Rosa¹; Gustavo Felipe da Silva Sousa¹; Uriel Secco Londero¹; Cassio Cassal Brauner¹; Francisco Augusto Burkert Del Pino¹; Viviane Rohrig Rabassa¹; Marcio Nunes Corrêa¹

¹ Núcleo de Pesquisa Ensino e Extensão em Pecuária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Brasil

Título curto: Proteína protegida na dieta sobre parâmetros metabólicos, produção e composição do leite

.

*Correspondence: Riteli dos Santos Teixeira

Veterinary Physiology

Faculdade de Veterinária

Universidade Federal de Pelotas

Campus Universitário, S / N - Capão do Leão, RS

Telefone

E-mail: email rititeixeira@hotmail.com

Resumo

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito de duas formas de proteína protegida na dieta de vacas leiteiras sobre a produção e composição do leite e parâmetros metabólicos, durante o

pico de lactação. Foram utilizadas 36 vacas da raça Holandês distribuídas em 3 Grupos: Grupo Controle (CON, n=12) recebeu dieta com ração totalmente misturada (TMR) composta por silagem de milho, pré-secado de azevém e concentrado comercial; Grupo Químico (QUI, n=12), dieta TMR, composta por silagem de milho, azevém pré-seco, concentrado comercial com substituição parcial de 66,9% de farelo de soja por farelo de soja com proteção química; e Grupo Térmico (TER, n=12), dieta TMR, composta por silagem de milho, azevém pré-seco, concentrado comercial com substituição parcial de 66,9% de farelo de soja por farelo de soja com proteção térmica. Todas as dietas eram isoprotéicas e isoenergéticas. Foram coletadas amostras de sangue semanalmente para avaliação dos níveis circulantes de albumina, proteínas totais, fósforo, cálcio, magnésio, gama glutamiltransferase (GGT) e aspartato aminotransferase (AST). Diariamente, foram medidas as produções de leite de cada animal nas três ordenhas e foi avaliado o consumo através de alimentadores automáticos, bem como foram coletadas amostras de alimentos para a estimativa do teor de matéria seca da dieta e para determinação do consumo de matéria seca. Semanalmente, foram coletadas amostras de leite para a análise dos constituintes (teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e nitrogênio uréico no leite) e contagem de células somáticas. A produção de leite do Grupo CON foi maior em comparação aos Grupos QUI e TER ($p=0,02$). Para os parâmetros de qualidade do leite, o Grupo QUI apresentou maior concentração de sólidos totais, bem como de proteína, que os demais Grupos ($p<0,01$). Quanto aos resultados referentes ao consumo, os animais TER tiveram maior consumo de matéria seca que os Grupos CON e QUI ($p<0,01$). Referente ao metabolismo mineral os animais CON tiveram menor teor sanguíneo de cálcio total que demais Grupo ($p<0,01$). Ainda, em tal grupo, o nível de magnésio foi menor que a de animais TER, entretanto, o Grupo QUI foi semelhante a ambos ($p<0,01$). Portanto, a inclusão de farelo de soja com proteção química na dieta de vacas leiteiras aumenta a concentração de sólidos totais e proteína do leite, mesmo com menor consumo de matéria seca e produção de leite.

Palavras chaves: proteína by-pass; PNDR; proteína do leite

Introdução

A proteína bruta (PB) fornecida na dieta de vacas leiteiras é essencial e desempenha funções importantes, como o aumento da produção de leite e seus constituintes (Wu e Sattar, 2000). No entanto, vale ressaltar que, além de representar um dos componentes mais caros da alimentação, ele também aumenta a concentração ruminal de amônia (NH₃) (Prestegard-Wilson *et al.*, 2021). Quando essa concentração excede a capacidade dos microrganismos ruminais de metabolizá-lo, a amônia é excretada no meio ambiente por meio das fezes e da urina (Castillo *et al.*, 2000). Portanto, otimizar a utilização da PB na dieta das vacas leiteiras não apenas beneficia a produção de leite, diminuiu custos ao produtor, mas também contribui para reduzir potenciais impactos ambientais decorrentes da excreção de nitrogênio (N).

As necessidades dietéticas de proteína metabolizável para ruminantes são atendidas através da absorção intestinal de aminoácidos, oriundos da proteína não degradável no rúmen (PNDR) e proteína microbiana verdadeira digestível. Com isso, a otimização da nutrição visa principalmente maximizar o fluxo de aminoácidos para o intestino delgado, aproveitando o N disponível para aprimorar a eficiência da produção (Kalscheur *et al.*, 2006; Hristov, 2016; Amanlou *et al.*, 2017).

Atualmente, na indústria, existem diversas formas de proteger a proteína da degradação ruminal, sendo eles químicos e físicos (Broderick *et al.*, 1991; Vanegas *et al.*, 2017; Haro *et al.*, 2019). Entre os produtos disponíveis no mercado, destaca-se o farelo de soja que recebe tratamento físico, o qual é o aquecimento do farelo de soja, e ocorre a ligação de grupamentos aldeídos de carboidratos presentes no alimento aos grupos amino livres das proteínas, assim, essa técnica é capaz de reduzir a digestibilidade da proteína ruminal, promovendo a sua degradação intestinal (Chalupa, 1975; Araújo *et al.*, 2019). Outra possibilidade existente é o

tratamento químico, um sal orgânico não volátil estável, que reage com aminoácidos primários ou secundários de proteínas e grupos hidroxila de amidos, fazendo com que não haja degradação no rúmen (Dunshea *et al.*, 2012).

Há estudos que mostram a efetividade deste composto físico como método de proteção de nutrientes, porém ainda não tem estudos comparando esses dois diferentes tratamentos. Com base nesse contexto, o presente estudo tem por objetivo avaliar o efeito de duas formas de proteína protegida da degradação ruminal na dieta de vacas leiteiras durante o pico da lactação sobre parâmetros metabólicos, produção e composição do leite, em condições subtropicais.

Materiais e Métodos

Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pelotas (CEUA-UFPEL), sob o número 23110.021837/2023-45. O experimento foi realizado em uma propriedade leiteira comercial no sul do Rio Grande do Sul - Brasil, no município de Rio Grande (32°24'76" Sul; 52°50'30" Oeste). Trinta e seis vacas da raça Holandês entre 45 a 90 dias em lactação foram incluídas no ensaio de sete dias de adaptação e 42 dias experimentais. Vacas primíparas e secundíparas foram escolhidas de forma homogênea de acordo com idade, ausência de registro de doenças, produção total de leite e contagem de células somáticas da lactação anterior. Posteriormente, as vacas foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado dividido em três grupos e passaram por um período de 7 dias de adaptação aos cochos automáticos e a dieta. Os grupos correspondiam:

- Grupo Controle (CON), dieta com ração mista total (TMR) composta por silagem de milho, pré-secado de azevém (*Lolium multiflorum*) e concentrado comercial.

- Grupo Químico (QUI), dieta com ração total mista (TMR), composta por silagem de milho, pré-secado de azevém (*Lolium multiflorum*), além de concentrado comercial com

substituição parcial de 66,9% de farelo de soja por farelo de soja protegido quimicamente com BioProtect®, Realistic Agri, Rutland, UK).

- Grupo Térmico (TER), dieta com ração total mista (TMR), composta por silagem de milho, pré-secado de azevém (*Lolium multiflorum*) e concentrado comercial com substituição parcial de 66,9% de farelo de soja por farelo de soja protegido através do método térmico que ocasiona a reação de Maillard (SoyPass®, Cargill, Minas Gerais, BR). Ambas as dietas eram isoprotéicas e isoenergéticas, conforme apresentados no anexo 1.

A avaliação do consumo foi obtida diariamente durante o período de 24 horas por dia, por meio de alimentadores automáticos (Intergado®, Minas Gerais, BR), de forma individualizada.

Para a estimativa do teor de matéria seca (MS) da dieta e determinação do consumo foram coletadas diariamente 100g de amostra de silagem de milho, pré-secado e de TMR. As análises do teor de MS da dieta foram realizadas através do uso de *Air Fryer*®, conforme metodologia descrita por Ferreira (2018).

Durante todo o período experimental, foram coletadas amostras semanais (duas vezes na semana) de silagem e pré-secado ($\pm$ 300g), para realização das análises bromatológicas. Também, diariamente, foi coletada uma pequena porção da TMR para composição do *pool* da dieta semanal para análise bromatológica.

Posteriormente, as amostras de alimento foram encaminhadas ao Laboratório de Nutrição do Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC-UFPEL, Pelotas, Campus Capão do Leão), onde foi realizada a pré-secagem dos alimentos em estufa de circulação forçada a 55°C, por 72 horas. Para análise da MS definitiva, cálculo de matéria orgânica e matéria mineral, utilizou-se a metodologia descrita por Easley *et al.* (1965) e AOAC (1995).

A análise para determinação de PB foi realizada através do método descrito por Kjeldhal (AOAC, 1995). As análises de fibra em detergente neutro (FDN) e de fibra em detergente ácido (FDA) foram realizadas segundo metodologia de Van Soest & Robertson (1985).

Os animais eram ordenhados três vezes ao dia. As produções de leite diárias de cada animal foram medidas eletronicamente pelo software DelPro™ (DeLaval®, Lund, SE) para cada ordenha durante os 42 dias experimentais.

Foram realizadas coletas de leite nos dias 1, 7, 14, 21, 28, 35 e 42. As coletas foram realizadas nas três ordenhas do dia (manhã, tarde e noite) em frascos contendo conservante bromopol. As amostras foram mantidas refrigeradas e, posteriormente, foram enviadas ao Laboratório Centralizado de Análise de Leite, na Associação Paranaense dos Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH), para análise dos constituintes do leite (gordura, proteína, lactose, sólidos totais e nitrogênio uréico do leite) e qualidade do leite (contagem de células somáticas (CCS). As análises foram executadas no equipamento automatizado Bentley NexGen® (Dairy Equipaments Importação Ltda.).

Foram realizadas coletas semanais de sangue, por punção da veia coccígea pelo sistema Vacutainer (Diagnóstico BD, SP, Brasil), em tubos contendo fluoreto de sódio e tubos com ativador de coágulo. As amostras de sangue foram centrifugadas a 3500 rpm por 10 minutos imediatamente após a coleta para separar o soro e o plasma. Cada fração das amostras foi armazenada em tubos Eppendorf® (em duplicata) de 1,5 mL a -20 °C. Foram realizadas análises relacionadas ao perfil proteico (ureia, albumina, proteínas totais), mineral (fósforo, cálcio, magnésio) e hepático, com análise das enzimas gama glutamiltransferase (GGT) e aspartato aminotransferase (AST). Todas as análises foram realizadas em analisador bioquímico automático (Labmax Plenno, Labtest Diagnóstica SA, MG, Brasil), seguindo recomendações do fabricante.

Os dados foram analisados no programa estatístico JMP (SAS, Institute Inc). As médias foram analisadas através do método de análise de variância por medidas repetidas, considerando o grupo, momento da coleta e sua interação. A comparação de médias individuais foi feita através do teste de Tukey-Kramer. Foram considerados significativos valores de $P < 0,05$.

Resultados

Produção e composição do leite

Os resultados produtivos durante os 42 dias de período experimental para os três tratamentos são apresentados na Tabela 1. As vacas do grupo CON apresentaram maior produção de leite ($p=0,02$).

Em relação à composição do leite, as vacas do grupo QUI apresentaram maiores teores de proteína, em relação ao grupo CON e grupo TER ($p<0,01$), bem como, maiores concentrações de sólidos totais ($p<0,01$). Os demais componentes do leite foram semelhantes entre os tratamentos ($P>0,05$) durante o período experimental (Tabela 1).

Consumo alimentar

Os resultados de consumo durante os 42 dias de período experimental para os três tratamentos são apresentados na Tabela 2. Quanto à ingestão de matéria seca, o grupo QUI apresentou menor consumo de MS, em relação ao grupo controle e ao grupo TER ($p<0,01$).

Análises bioquímicas

Os resultados referentes aos metabólitos estão descritos na Tabela 3. Em relação ao metabolismo mineral, animais que não receberam suplementação de proteína protegida, o grupo controle, teve menor teor de cálcio sanguíneo total que os grupos que receberam farelo de soja protegido. Ainda, vacas do grupo controle apresentaram menor concentração de magnésio que o grupo TER, entretanto, o grupo QUI foi semelhante aos demais. Quanto à concentração de fósforo sérica, os resultados dos grupos foram equivalentes. A respeito dos parâmetros

relacionados ao metabolismo proteico e perfil hepático, não houve diferença entre os grupos para as variáveis ureia, albumina, GGT, AST e PPT (Tabela 3).

Discussão

Podemos observar em nosso estudo, um aumento nas concentrações de sólidos totais e no rendimento de proteína do leite. Esses resultados nos levam a considerar que a presença de 5,86% de proteína não degradável no rúmen (PNDR) no grupo QUI foi suficiente para estimular uma síntese adequada de proteína microbiana, resultados semelhantes ao encontrado por Davidson *et al.* (2003).

Dessa forma, foi assegurado o fornecimento de proteína metabolizável, conforme evidenciado por Davidson *et al.* (2003), podendo ser atribuído a uma maior digestibilidade pós-ruminal da proteína bruta (PB) e à disponibilidade de aminoácidos essenciais. Esses fatores contribuem para otimizar a utilização do nitrogênio (N), resultando em uma absorção mais eficiente de aminoácidos que atendem às demandas necessárias para a síntese da proteína do leite, como encontrado por Noftsker e St-Pierre (2003).

Outro resultado importante encontrado em nosso estudo, foram os níveis maiores de cálcio e magnésio para as vacas que receberam farelo de soja protegido. Segundo Liesegang *et al.* (2007), as vacas leiteiras no início da lactação têm uma maior demanda na glândula mamária por cálcio e magnésio para produção de leite, com isso as vacas aumentam a mobilização cálcio e absorção do mesmo no trato digestivo (Liesegang *et al.*, 2007). Além disso, o magnésio é importante para reabsorção óssea de Ca (Robson *et al.*, 2004), o que cria uma ligação entre o metabolismo de magnésio e cálcio (Allen *et al.*, 1981).

O CMS é um dos principais determinantes para a produção de leite (Hristov *et al.*, 2004), e podemos observar em nosso estudo uma diminuição no CMS, onde afetou a produção de leite no grupo QUI. Estudos anteriores relataram que dietas deficientes de precursores de proteína

microbiana diminuíram a produção de leite em comparação com dietas com teores adequados, apesar das dietas serem balanceadas para aminoácidos absorvíveis (Cabrita *et al.*, 2011; Giallongo *et al.*, 2016). Em alguns casos, no entanto, a suplementação de dietas deficientes em MP com aminoácidos protegidos no rúmen manteve com sucesso a produção de leite e seus componentes (Broderick *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2015; Patton *et al.*, 2015).

Henson *et al.* (1997) e Rehman *et al.* (2020) encontraram resultados semelhantes com os nossos, onde os animais suplementados com proteína protegida também apresentaram uma menor ingestão de matéria seca. Esses padrões podem ser atribuídos à forma de proteção adotada pelo grupo QUI, que aumentou a proporção de PNDR e, por sua vez, uma diminuição na concentração de produção de nitrogênio ruminal, conforme descrito por Fessenden *et al.* (2020). Assim, os menores níveis de nitrogênio, podem diminuir o crescimento e atividade das bactérias fibrolíticas, causando um aumento no tempo de degradação ruminal da ingesta, diminuindo o consumo. Tal impacto negativo sobre a eficiência digestiva resulta na diminuição da ingestão, como evidenciado em estudos prévios por Weigel *et al.* (1997), Owens *et al.* (2014) e Allen (2000).

A presença de nitrogênio a nível ruminal é fundamental para garantirmos a atividade microbiológica no rúmen, assegurando a relação simbiótica e gerando índices zootécnicos de relevância, o que potencializa a economia dos produtores. Porém, o seu excesso causa impactos negativos relacionados à sua excreção por vias exógenas, levando à contaminação ambiental. Embora não tenhamos observado diferenças nos níveis de nitrogênio ureico no leite, a partir dos resultados observados de aumento dos níveis de proteína e sólidos no leite no grupo QUI, sugere que esses indivíduos provavelmente apresentaram uma maior disponibilidade de aminoácidos a nível intestinal. Isso, por sua vez, indica uma eficiência superior na utilização de farelo de soja tratado quimicamente.

Conclusão

Portanto, a inclusão de farelo de soja com proteção química na dieta de vacas leiteiras aumenta as concentrações de sólidos totais e proteína do leite, mesmo com menor consumo de matéria seca e produção de leite.

Referências bibliográficas

- Allen WM, Sansom BF & Davies DC, 1981 Hypomagnesaemia in cows [correspondence concerning its relationship to milk fever]. *Veterinary Record* 3 2134-2154
- Allen, MS 2000 Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science* **83** 1598-1624
- Amanlou H, Farahani TA, Farsuni NE 2017 Effects of rumen undegradable protein supplementation on productive performance and indicators of protein and energy metabolism in Holstein fresh cows. *Journal of Dairy Science*, **100** 3628-3640
- Araujo CM, Oliveira KA, Macedo Junior GL, Silva AL, Silva DAP & Siqueira MTS 2019 Aminoácidos protegidos na ração de borregas sobre o consumo, desempenho e comportamento ingestivo. *Caderno De Ciências Agrária* **11** 1–10
- Broderick GA, WALLACE RJ, ORSKOV ER 1991 Control of rate and extent of protein degradation. In: Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants. *Academic Press* 541-592
- Broderick GA *et al* 2008 Effect of supplementing rumen-protected methionine on production and nitrogen excretion in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* **91** 1092-1102
- Cabrita ARJ, Dewhurst RJ, Melo DSP, Moorby JM & Fonseca AJM 2011 Effects of dietary protein concentration and balance of absorbable amino acids on productive responses of dairy cows fed corn silage-based diets. *Journal of Dairy Science* **94** 4647-4656

- 246 Castillo AR, KEBREA BE, BEEVER DE & FRANCE JA 2000 Review of efficiency of
247 nitrogen utilisation in dairy cows and its relationship with the environmental pollution.
248 *Journal Animal Feed Science* **9** 1–32
- 249 Chalupa W. 1975 Rumen bypass and protection of proteins and amino acids. *Journal of Dairy*
250 *Science* **58** 1198-1218
- 251 Dunshea FR, Russo VM, Sawyer I & Leury BJ 2012 A starchbinding agent decreases the in
252 vitro rate of fermentation of wheat. *Journal of Animal Science* **90** 149-158
- 253 Davidson S *et al.* 2003 Effects of amounts and degradability of dietary protein on lactation,
254 nitrogen utilization, and excretion in early lactation Holstein cows. *Journal of Dairy*
255 *Science* **86** 1681-1689
- 256 Fessenden SW, Ross DA, Block E & Van Amburgh ME 2020 Comparison of milk production,
257 consumption and total nutrient digestion in lactating dairy cows fed diets containing
258 wheat bran and urea, commercial fermentation by-product or rumen-protected soybean
259 meal. *Journal of Dairy Science* **103** 5090-5101
- 260 Giallongo F, Harper MT, Oh J, Lopes JC, Lapierre H, Patton RA & Hristov AN 2016 Effects
261 of rumen-protected methionine, lysine, and histidine on lactation performance of dairy
262 cows. *Journal of Dairy Science* **99** 4437-4452.
- 263 Haro A *et al.* 2019 Effects of feeding rumen-protected sunflower seed and meal health protein
264 on feed intake, diet digestibility, ruminal, cecal fermentation, and growth performance
265 of lambs. *Animals* **9**, 415-428
- 266 Henson JE, Schigoethe DJ, Maiga HA 1997 Lactational evaluation of protein supplements of
267 varying ruminal degradabilities. *Journal of Dairy Science* **80** 385-392
- 268 Hristov W, Price BS 2004 A meta-analysis examining the relationship among dietary factors,
269 dry matter intake, and milk and milk protein yield in dairy cows. *Journal of Dairy*
270 *Science*, **87** 2184-2196

- 271 Kalscheur KF *et al.* 2006 Milk production of dairy cows fed differing concentrations of
 272 rumen-degraded protein. *Journal of Dairy Science* **89** 249-259
- 273 Lee, C *et al.* 2015 Effect of dietary protein level and rumen-protected amino acid with
 274 supplementation on amino acid utilization for milk protein in lactating dairy cows.
 275 *Journal of Dairy Science* **98** 1885-1902
- 276 Liesegang A *et al.* 2007 Influence of different calcium contents in diets supplemented with
 277 anionic salts on bone metabolism in periparturient dairy cows. *Journal of Animal*
 278 *Physiology and Animal Nutrition* **91** 120-119
- 279 Noftsker S, St-Pierre NR 2003 Supplementation of methionine and selection of highly
 280 digestible rumen undegradable protein to improve nitrogen efficiency for milk
 281 production. *Journal of Dairy Science* **86** 958-969.
- 282 Owens FN, Qi S & SAPIENZA DA 2014 Invited Review: Applied protein nutrition of
 283 ruminants Current status and future directions. *The Professional Animal Scientist* **30**
 284 150-179
- 285 Patton RA *et al.* 2015 Relationships between circulating plasma concentrations and duodenal
 286 flows of essential amino acids in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* **98**
 287 707-734
- 288 Prestegard-wilson JM *et al.* 2021 A survey of United States dairy cattle nutritionists practices
 289 and perceptions of reducing crude protein in lactating dairy cow diets. *Applied Animal*
 290 *Science* **37** 697-709
- 291 Rehman R, Amjad S, Tariq, H, Zahid N, Akhter M & Ashraf M 2020. Oxidative stress and
 292 male infertility: a cross sectional study. *J Pak Med Assoc* **70** 461-466
- 293 Robson AB *et al.* 2004 A model of magnesium metabolism in young sheep: transactions
 294 between plasma, cerebrospinal fluid and bone. *British journal of nutrition* **91** 73-79

- 295 Vanegas JL, González J, Carro MD. 2017 Influence of protein fermentation and carbohydrate
296 source on in vitro methane production. *Journal of Animal Physiology and Animal*
297 *Nutrition* **101** 288–296
- 298 Wigwl DJ, Elliott JP, Clark JH 1997 Effects of amount and ruminal degradability of protein
299 on nutrient digestibility and production by cows fed tallow. *Journal of Dairy Science*
300 **80** 1150-1159
- 301 Wu Z, Satter LD 2000 Milk production during the complete lactation of dairy cows fed diets
302 containing different amounts of protein. *Journal of Dairy Science* **83** 1042-1051

303 **Tabelas**

304 **Tabela 1.** Ingredientes e composição química das dietas ofertadas da ração totalmente
 305 misturada com adição de proteína protegida pelo método químico com uso de agente
 306 aglutinante (QUI), método térmico (TER) ou sem proteção (CON).

Nutriente	Dieta Experimental		
	QUI	TER	CON
<i>Ingredientes</i>			
Água (Kg)	1,00	1,00	1,00
Silagem de milho (Kg)	32,00	32,00	32,00
Pré-secado de azevém (Kg)	6,00	6,00	6,00
Casca de Soja (Kg/MS)	23,5262	23,5262	23,5262
Milho moído (%MS)	24,0163	24,0163	24,0163
Farelo de arroz integral	17,2325	17,2325	17,2325
Farelo de soja 48% (%MS)	7,5769	7,5821	22,9302
Farelo de soja 48% Aglutinante (%MS)	15,3533	-	-
Farelo de soja 48% Térmico (%MS)	-	15,2951	-
DDG Alta proteína (%MS)	4,1438	4,1438	4,1438
Gordura protegida (%MS)	1,9108	1,9108	1,1908
Ureia pecuária (%MS)	1,1028	1,1028	1,1028
Premix vitamínico (%MS)	0,5291	0,5291	0,5291
Tamponante (%MS)	1,2699	1,2699	1,2699
Calcário (%MS)	2,0608	2,0608	2,0608

Cloreto de sódio (%MS)	1,1139	1,1139	1,1139
Adsorvente (%MS)	0,1637	0,1637	0,1637
Composição Química (% MS)			
Matéria Seca	95,24	93,11	93,89
Matéria Mineral	10,50	10,29	11,60
Matéria Orgânica	89,85	86,44	88,29
Fibra em Detergente Neutro	55,17	51,55	53,39
Fibra em Detergente Ácido	32,8	30,09	34,22
Proteína Bruta	17,01	16,12	16,48
Extrato Etéreo	3,47	3,97	3,12
Carboidratos Não Fibrosos	13,84	18,06	15,41
Nutrientes Digestíveis totais	79,99	76,60	76,89
Proteína Degradada no Rúmen	11,15	10,57	11,20
Proteína Não Degradada no Rúmen	5,86	5,55	5,28
%PDR, PB	65,54	65,57	67,96
%PNDR, PB	34,46	34,43	32,04

307

308 **Tabela 2.** Médias $\pm$ erros padrões da produção e constituintes do leite de vacas da raça Holandês
309 recebendo dietas com farelo de soja protegido por método térmico ou químico.

Parâmetro	Grupos						Valor de <i>p</i>		
	CON		TER		QUI		Gru	Coleta	Gru*Col eta
	Média	EPM ¹	Média	EPM ¹	Média	EPM ¹			
Prod. de Leite (Kg)	32,50	0,34 ^a	31,13	0,34 ^b	31,11	0,34 ^b	0,02	<0,01	0,33

Proteína (g/dL)	2,91	0,02 ^b	2,93	0,02 ^b	3,00	0,02 ^a	<0,01	<0,01	0,98
Nit. Ureico(g/dL)	10,36	0,25	11,06	0,25	10,68	0,25	0,18	<0,01	0,98
Lactose (g/dL)	4,58	0,02	4,60	0,02	4,61	0,02	0,64	<0,01	0,52
Gordura (g/dL)	3,06	0,06	3,19	0,07	3,24	0,06	0,14	<0,01	0,37
Sólidos Totais(g/dL)	11,51	0,08 ^b	11,59	0,08 ^b	11,91	0,08 ^a	<0,01	<0,05	0,37
CCS (10 ⁵ /mL)	2,16	0,06	2,24	0,06	2,07	0,06	0,18	0,60	0,99

EPM=Padrão da média; CON= Controle; TER= Térmico; QUI= Químico; Gru=Grupo; Prod. de leite = Produção de leite;
Nit. Ureico= Nitrogênio Ureico. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística.

Tabela 3. Médias $\pm$ erros padrões do consumo de matéria seca de vacas da raça Holandês recebendo dietas com farelo de soja protegido por método térmico ou químico.

Parâmetro	Grupos						Valor de <i>p</i>		
	CON		TER		QUI		Gru	Dia	Gru*Dia
	Média	EPM ¹	Média	EPM ¹	Média	EPM ¹			
Consumo de MS	19,45	0,29 ^b	23,62	0,34 ^a	16,80	0,31 ^c	<0,01	<0,01	<0,01

Consumo de MS= Consumo de matéria seca (Kg). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística.

Tabela 4. Médias $\pm$ erros padrões da produção e constituintes do leite de vacas da raça Holandês recebendo dietas com farelo de soja protegido por método térmico ou químico.

Parâmetro	Grupos						Valor de <i>p</i>		
	CON		TER		QUI		Gru	Dia	Gru*Dia
	Média	EPM ¹	Média	EPM ¹	Média	EPM ¹			
PPT (g/dL)	8,40	0,08	8,59	0,08	8,44	0,08	0,22	0,16	0,36
Albumina (g/dL)	2,59	0,03	2,62	0,04	2,70	0,03	0,36	<0,01	<0,01
GGT (U/L)	43,65	1,72	45,89	1,81	42,67	1,77	0,42	0,03	0,02

AST (U/L)	105,54	3,25	104,55	3,51	106,01	3,41	0,99	<0,01	0,36
Cálcio Total (mg/dL)	9,62	0,06 ^b	9,96	0,06 ^a	10,00	0,06 ^a	<0,01	<0,01	0,01
Fósforo (mg/dL)	5,60	0,12	6,0	0,13	5,9	0,12	0,07	<0,01	0,07
Magnésio (mg/dL)	1,99	0,03 ^b	2,18	0,03 ^a	2,10	0,03 ^{ab}	<0,01	<0,01	<0,01
GGT (U/L)	43,65	1,72	45,89	1,81	42,67	1,77	0,42	0,03	0,02

320 EPM = Padrão da média; CON = Controle; TER = Térmico; QUI= Químico; Gru = Grupo; AGNE = Ácidos
321 graxos não esterificados; BHBA = Beta-hidroxibutirato; GGT = gama-glutamyl transferase; AST = Aspartato
322 amino transferase; PPT = Proteínas plasmáticas totais. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença
323 estatística.

3 Considerações Finais

Foi possível observar em nosso estudo, que é possível potencializarmos a produtividade leiteira, mantendo o bem-estar animal e diminuindo o impacto ambiental.

Referências

- BERCHIELLI, T.T.; VEGAGARCIA, A.; OLIVEIRA, S.G. Principais técnicas de avaliação aplicadas em estudo de nutrição. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds). **Nutrição de Ruminantes**. 2.ed. Jaboticabal: Funep, 2011. p.565-600.
- BERRY, E.M.; DERNINI, S.; BURLINGAME, B.; MEYBECK, A.; CONFORTI, P. Food security and sustainability: can one exist without the other? **Public Health Nutrition**, v.18, p.2293–2302, 2015.
- BORCHERS, M.R.; BEWLEY, J.M. An assessment of producer precision dairy farming technology use, prepurchase considerations, and usefulness. **Journal of Dairy Science**, v.98, n.6, p.4198–4205, 2015.
- BOTTEON, R.C.C.; BOTTEON, P.T.L.; SANTOS, J.J.C.B.; PINNA, N.H.; LÓSS, Z.G. Frequência de diarreia em bezerros mestiços sob diferentes condições de manejo na região do Médio Paraíba - Rio de Janeiro e Minas Gerais. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.45, p.153-160, 2008.
- BRITO, L.F.; BEDERE, N.; DOUHARD, F.; OLIVEIRA, H.R.; ARNAL, M.; PEÑAGARICANO, F.; MIGLIOR, F. Genetic selection of high-yielding dairy cattle toward sustainable farming systems in a rapidly changing world. **Animal**, v.15, p.100-292, 2021.
- CAMPOS, O.F.; CAMPOS, A.T. Instalações para bezerros de rebanhos leiteiros. Embrapa Gado de Leite-**Circular Técnica**, v.1, p.1–6, 2004.
- CAPPER, J.L.; CADY, R.A. Os efeitos do melhor desempenho na indústria de gado leiteiro dos EUA sobre os impactos ambientais entre 2007 e 2017. **Journal of Animal Science**, v.1, p.291, 2020.
- CARO, D. KEBREAB, E.; MITLOEHNER, F.M. Mitigação das emissões de metano entérico dos sistemas pecuários globais por meio de estratégias de nutrição. **Clim. Alteração**, v.137, p.467–480, 2016.
- CHASE, L.E.; HIGGS, R.J.; VAN AMBURGH, M.E. Feeding low crude protein rations to dairy cows—What have we learned. In: Annual Florida Ruminant Nutri. Symp. Univ. of Florida, Gainesville (2012), p.32-42, 2012.
- CHEE-SANFORD, J.C.; MACKIE, R.I.; KOIKE, S.; KRAPAC, I.G.; LIN, Y.F.; YANNARELL, A.C.; *et al.* Destino e transporte de resíduos de antibióticos e genes de resistência a antibióticos após a aplicação de resíduos de esterco na terra. **Journal of Environmental Quality**, v.38, p.1086–1108, 2009.
- CULLY, M. A política dos antibióticos. **Natureza**, v.509, p.74-98, 2014.
- DOEHRING, C.; SUNDRUM, A. Eficácia da homeopatia no gado de acordo com publicações revisadas por pares de 1981 a 2014. **Veterinary Record**, p.179-628, 2016.

ERICKSON, P.S.; KALSCHEUR, K.F. Nutrição e alimentação de bovinos leiteiros. In: **Agricultura Animal**, Imprensa Acadêmica, p.157-180, 2020.

FAO- Food and Agriculture Organization of the United Nations (2014a). Building a common vision for sustainable food and agriculture: Principles and approaches. Rome. Online: accessed United Nations Food and Agriculture Organisation. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i3940e.pdf>, Acesso em: 24 outubro de 2023.

FAO-IDF- Food and Agriculture Organization of the United Nations. Guide to good dairy farming practice. Animal Production and Health Guidelines. In: 8° Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy (2011) International Dairy Federation, Brussels, Belgium, 2011.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO STAT – Livestock Primary. Roma, Italy, 2019. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL>. Acesso em: 24 outubro de 2023.

GOULD, K. Antibiotics: from prehistory to the present day. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.71, p.572–575, 2016.

GROSS, J.J.; BRUCKMAIER, R.M. Invited review: Metabolic challenges and adaptation during different functional stages of the mammary gland in dairy cows: Perspectives for sustainable milk production. **Journal of Dairy Science**, v.102, n.4, p.2828-2843, 2019.

GUTIÉRREZ, D.; FERNÁNDEZ, L.; RODRÍGUEZ, A.; GARCÍA, P. Role of bacteriophages in the implementation of a sustainable dairy chain. **Frontiers in microbiology**, v.10, p.1-14, 2019.

HULBERT, L.E.; MOISÁ, S.J. Estresse, imunidade e manejo de bezerros. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n.4, p.3199-3216, 2016.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas. Produção de Leite Nacional. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/leite/br> Acesso em 24 de outubro de 2023.

LAPIERRE, H.; LOBLEY, G.E. Reciclagem de nitrogênio no ruminante: uma revisão **Journal of Dairy Science**, v.84, p.223-236, 2001.

LEKSHMI, M.; AMMINI, P.; KUMAR, S.E.; VARELA, M.F. The food production environment and the development of antimicrobial resistance in human pathogens of animal origin. **Microorganisms**, v.5, p.1-11, 2017.

LIU, B.; LIU, W.; NIE, X.; GUAN, C.; YANG, Y.; WANG, Z. Growth response and toxic effects of three antibiotics on *Selenastrum capricornutum* evaluated by photosynthetic rate and chlorophyll biosynthesis. **Journal of Environment Science**. v.23, p.1558–1563, 2011.

LOVARELLI, D.; BACENETTI, J.; GUARINO, M. A review on dairy cattle farming: Is precision livestock farming the compromise for an environmental, economic and social sustainable production? **Journal of Cleaner Production**, v.262, p.1-40, 2020.

MARTIN, W.; MITRA, D. Crescimento da produtividade e convergência na agricultura e manufatura. **Econ. Dev. Cult. Mudança**, v.49, p.403–423, 2001.

MARTINS, M.M. **Efeito de um composto homeopático sobre o desempenho, saúde e sistema imune de bezerras no período de aleitamento**. 2021. *Tese de Doutorado*. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2021. 50f.

MICHALK, D.L.; KEMP, D.R.; BADGERY, W.B.; WU, J.; ZHANG, Y.; THOMASSIN, P.J. Sustainability and future food security- A global perspective for livestock production. **Land Degradation & Development**, v.30, n.5, p.561-573, 2019.

MOULLAN, N.; MOUCHIROUD, L.; WANG, X.; RYU, D.; WILLIAMS, E.G.; MOTTIS, A.; JOVAISAITE, V.; FROCHAUX, M.V.; QUIROS, P.M.; DEPLANCKE, B.; HOUTKOOPER, R.H.; AUWERX, J. Tetracyclines disturb mitochondrial function across eukaryotic models: a call for caution in biomedical research. **Cell Reports**, v.10, n.10, p.1681-1691, 2015.

OLMOS COLMENERO, J.J.; BRODERICK, G.A. Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.1704-1712, 2006.

PEREIRA, L.C.A.; de FATIMA MADELLA-OLIVEIRA, A. Bem-estar de bezerros durante o aleitamento e a desmama em diferentes sistemas de criação: Revisão. **Pubvet**, v.14, p.163, 2020.

POIZAT, A.; BONNET-BEAUGRAND, F.; RAULT, A.; FOURICHON, C.; BAREILLE, N. Uso de antibióticos por fazendeiros para controlar a mastite influenciado por conselhos de saúde e sistemas de produção leiteira. **Anterior Vet Med.**, v.146, p.61–72, 2018.

RIJNBERK, A.; RAMEY, D. O fim da homeopatia veterinária. **Australian Veterinary Journal**, v.85, p.513–516, 2007.

ROCHA, D.T.; CARVALHO, G.R.; RESENDE, J.C. Cadeia produtiva do leite no Brasil: produção primária. **Circular Técnica 123**, Embrapa, Juíz de Fora-MG, p.1-16, 2020.

ROTH, N.; KASBOHRER, A.; MAYRHOFER, S.; ZITZ, U.; HOFACRE, C.E.; DOMIG, K.J. The application of antibiotics in broiler production and the resulting antibiotic resistance in *Escherichia coli*: a global overview. **Poultry Science**, v.98, p.1791–1804, 2019.

SANTOS, G.T.; DAMASCENO, J.L.; MASSUDA, E.M. et al. Importância do manejo e considerações econômicas na criação de bezerras e novilhas. **In: Anais do II**

SulLeite: Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil, p. 239-267, 2002.

SCOTT, M.; BELLER, E.; GLASZIOU, P.; CLARK, J.; RANAKUSUMA, R.W.; BYAMBASUREN. O. Is antimicrobial administration to food animals a direct threat to human health? A rapid systematic review. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.52, n.3; p.316-323, 2018.

SIGNORETTI, C.J.; VERISSIMO, F.H.M. de; SOUZA, E.; OLIVEIRA, M. Aspectos produtivos e sanitários de vacas mestiças leiteiras tratadas com produtos homeopáticos R. D. V. Dib. Instituto de Zootecnia, Centro de Pesquisa em Zootecnia Diversificada, Nova Odessa, São Paul. Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos, Barretos, São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n.4, p.625-633, 2010.

SUÑÉ, R.W. Criação da terneira e da novilha leiteira. **Documentos Embrapa Pecuária Sul 93**, p.1982-5390, 2009.

SVENSSON, C.; LUNDBORG, K.; EMANUELSON, U. et al. Morbidity in Swedish dairy calves from birth to 90 days of age and individual calf-level risk factors for infectious diseases. **Preventive Veterinary Medicine**, v.58, n.3-4, p.179–197, 2003.

TRICARICO. J.M.; KEBREAB, E.; WATTIAUX, M.A. MILK Symposium review: Sustainability of dairy production and consumption in low-income countries with emphasis on productivity and environmental impact. **Journal of Dairy Science**, v.103, n.11, p.9677-9680, 2020.

VALLIMONT, J. E. et al. Heritability of gross feed efficiency and associations with yield, intake, residual intake, body weight, and body condition score in 11 commercial Pennsylvania tie stalls. **Journal of Dairy Science**, v.94, n.4, p.2108-2113, 2011.

VAN BOECKEL, T.P.; BROWER, C.; GILBERT, M.; GRENFELL, B.T.; LEVIN, S.A.; ROBINSON, T.P.; TEILLANT, A.; LAXMINARAYAN, R. Global trends in antimicrobial use in food animals. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.112, n.18, p.5649–5654, 2015.

VIKSVEEN, P. Antibiotics and the development of resistant microorganisms. Can homeopathy be an alternative?. **Homeopathy**, v.92, n.2, p.99-107, 2003.

VILELA, D.; RESENDE, J.C.; LEITE, J.B.; ALVES, E. A evolução do leite no Brasil em cinco décadas. **Revista de Política Agrícola**, v.26, n.1, p.5-24, 2017.

WEAVER, D. M., TYLER, J.W.; VANMETRE, D.C. et al. Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.14, n.6, p.569-577, 2000.

YAN, T.; FROST, J.P.; AGNEW, R.E.; BINNIE, R.C.; MAYNE, C.S. Relationships among manure nitrogen output and dietary and animal factors in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.3981-3991, 2006.