



ANA FLÁVIA SOUZA LIMA

**ESTÁGIO EM NUTRIÇÃO DE GADO LEITEIRO NO
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA DA UNIVERSIDADE
ESTADUAL DA DAKOTA DO SUL**

**LAVRAS-MG
2022**

ANA FLÁVIA SOUZA LIMA

**ESTÁGIO EM NUTRIÇÃO DE GADO LEITEIRO NO DEPARTAMENTO DE
ZOOTECNIA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DA DAKOTA DO SUL**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Colegiado do Curso de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras como parte das exigências para a obtenção do título de Bacharel em Zootecnia.

Prof. Dr. Marcos Neves Pereira
Orientador

**LAVRAS - MG
2022**

ANA FLÁVIA SOUZA LIMA

**ESTÁGIO EM NUTRIÇÃO DE GADO LEITEIRO NO DEPARTAMENTO DE
ZOOTECNIA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DA DAKOTA DO SUL**

**INTERNSHIP ON DAIRY CATTLE NUTRITION AT THE DEPARTMENT OF
ANIMAL SCIENCE AT SOUTH DAKOTA STATE UNIVERSITY**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao
Colegiado do Curso de Zootecnia da
Universidade Federal de Lavras como parte das
exigências para a obtenção do título de
Bacharel em Zootecnia.

APROVADO em 20 de abril de 2022

Dr. Marcos Neves Pereira UFLA

MSc. Coralline Barbosa UFLA

MSc. Fabiana Cardoso UFLA



Prof. Dr. Marcos Neves Pereira
Orientador

**LAVRAS – MG
2022**

RESUMO

Este trabalho de conclusão de curso é referente ao estágio realizado na Universidade Estadual da Dakota do Sul, no período de 10 de outubro de 2021 a 20 de março de 2022. O estudo foi realizado na fazenda Dairy Research and Training Facility. O objetivo desse estudo foi avaliar a eficácia de um novo suplemento alimentar microbiano composto por microrganismos nativos do rúmen no desempenho da lactação, fermentação ruminal e saúde de vacas leiteiras durante o período de transição. Cinquenta e seis vacas leiteiras da raça Holandesa fizeram parte da pesquisa. Os animais iniciaram o período experimental com -21 ± 3 dias relativos ao parto e permaneceram até 140 dias em lactação (DEL). No início do pré-parto, as vacas foram aleatoriamente designadas a dois tratamentos: Galaxis Frontier (5g / vaca /d + 150 g/d de milho) e o Controle (150 g/d de milho moído), ambos distribuídos de modo *top-dress* até o restante do período experimental. As atividades realizadas durante o estágio foram relacionadas ao experimento de pesquisa e incluíam: alimentação das vacas, coletas de alimentos, leite, sangue, fluido ruminal, fezes, urina, assim como coletas de dados de peso vivo e avaliação de escore de condição corporal dos animais. O experimento teve apenas a parte de campo com os animais concluída, logo resultados preliminares não serão apresentados neste documento.

Palavras chaves: Período de Transição, Microrganismos, Probióticos.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Loose housing de vacas secas e pré-parto.....	16
Figura 2: Maternidade e Hospital (West Wing).	17
Figura 3: Sistema Calf-Tel.	17
Figura 4: Novilhas de reposição.	18
Figura 5: Free stall das vacas em lactação.....	19
Figura 6: Sala de ordenha	20
Figura 7: Transponder individual	21
Figura 8: Tratamento Galaxis Frontier (vermelho) e Controle (verde).	22
Figura 9: Boxes de alimentação.....	24
Figura 10: Pesagem.	25
Figura 11: Amostra de fezes e urina.	26
Figura 12: Amostras de sangue	27
Figura 13: Amostras de líquido ruminal.....	28

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 REFERENCIAL TEÓRICO	8
2.1 Período de transição	8
2.1.1 Sistema imune	9
2.2 Microrganismos ruminais	11
2.3 Probióticos	12
3 DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO	14
3.1 Descrição da Fazenda: Dairy Research and Training Facility	15
3.1.1 Instalação e manejo de vacas no período seco e pré-parto	15
3.1.2 Maternidade e Hospital (<i>West Wing</i>)	16
3.1.3 Instalação e manejo de bezerras em aleitamento.	17
3.1.4 Instalação e manejo da recria	18
3.1.5 <i>Free stall</i> para as vacas em lactação	18
3.1.6 Sala de Ordenha	19
3.1.7 Alimentação	20
4 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	20
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
REFERÊNCIAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos tempos muitos produtores vêm buscando melhorar geneticamente seus animais, visando aumentar o potencial produtivo e conseqüentemente aumentar a lucratividade do seu rebanho. Porém, esses animais requerem nutrição e manejo adequados durante a vida reprodutiva para sustentar a alta produção de leite. Assim, muitos pesquisadores vêm buscando entender e desenvolver pesquisas no que tange a nutrição, metabolismo, saúde e reprodução, buscando melhorar a vida produtiva dos animais.

Um grande desafio em toda propriedade leiteira é o período de transição, onde as vacas deixam de ser gestantes e se inicia a fase de lactação. Esse período é marcado por inúmeras mudanças tanto fisiologicamente quanto metabólicas e comportamentais (NRC, 2001; CHEBEL, 2020), deixando assim os animais mais susceptíveis a doenças infecciosas e metabólicas (LEBLANC, 2006).

À medida que ocorre o aumento da produção de leite, o período de transição para vacas leiteiras se torna muito mais desafiador. Devido ao fato que, durante esse período as vacas possuem queda no consumo de matéria seca (MS) onde não conseguem atender as demandas requeridas de nutrientes, e como alternativa a vaca passa a mobilizar gordura corporal como fonte de energia (DRACKLEY, 1999), buscando poupar a glicose para a síntese de leite na glândula mamária (NRC 2001) e como consequência gera um balanço energético negativo (BEN) (DRACKLEY, 1999). Além disso, durante o período de transição, as vacas passam por disfunções do sistema imunológico (MALLARD et al., 1998) e isso está relacionado ao desafio metabólico associado ao início da lactação, que pode afetar a função imunológica, como por exemplo, contribuindo para a diminuição na produção das células de defesa do organismo e aumentando a incidência de doenças pós-parto (MALLARD et al., 1998; SORDILLO, 2016).

O rúmen é o ambiente anaeróbico, que possui condições ideais (temperatura, pH e substratos) para o crescimento dos microrganismos (RUSSELL, 2002; KOZLOSKI, 2019). A população microbiana presente no rúmen é constituída principalmente por bactérias, fungos e protozoários, responsáveis pela degradação dos alimentos, produção de ácidos graxos voláteis e proteína microbiana, gerando aporte de nutrientes para os ruminantes (KOZLOSKI, 2019). Desta forma, podemos dizer que existe uma relação simbiótica entre ruminantes e os microrganismos presentes do rúmen, ou seja, um depende do outro para sobreviver.

Fatores da composição e digestibilidade da dieta, práticas de alimentação, pH ruminal entre outros, têm sido relatados como fatores que afetam a composição e as funções da microbiota ruminal (NRC, 2001; LIMA et al., 2015; KOZLOSKI, 2019). A inclusão de aditivos

alimentares, como por exemplo, aditivos microbianos de alimentação direta ou também conhecidos como probióticos, nas dietas de vacas leiteiras, pode trazer benefícios para a vaca, seja pelo aumento da população de microrganismos saudáveis e ou relacionado a mudanças nas características de fermentação no rúmen e no trato gastrointestinal. Alguns estudos (Nocek e Kautz 2003; Nocek e Kautz 2006; Luan et al., 2015) mostraram que o fornecimento desses microrganismos durante o período de transição, favoreceu a digestibilidade de fibras, estabilidade do pH ruminal, ajudou a melhorar as funções do sistema imune e diminuiu a cetose subclínica no pós-parto.

As atividades principais do estágio foram relacionadas a um experimento de pesquisa cujo objetivo foi avaliar a eficácia de um novo suplemento alimentar microbiano composto por microrganismos nativos do rúmen no desempenho da lactação, fermentação ruminal e saúde de vacas leiteiras durante o período de transição.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Período de transição

O período de transição pode ser definido como sendo às três últimas semanas antes do parto e às três primeiras semanas após o parto (GRUMMER, 1995). Este é um período de grande desafio para as vacas parturientes, pois elas passam por intensas mudanças fisiológicas, metabólicas e comportamentais, de modo a se prepararem para o fim da gestação e início da lactação (NRC 2001; CHEBEL, 2020). Problemas na nutrição e manejo nesta fase podem impedir as vacas de expressarem sua máxima produção de leite na lactação subsequente (DRACKLEY, 1999), causando perdas econômicas significativas para os produtores de leite.

Durante a transição as vacas necessitam de uma alta demanda de nutrientes (principalmente, energia e proteína) para o crescimento final do feto, desenvolvimento da glândula mamária, produção de colostro e para a própria manutenção (NRC, 2001; GRUMMER, 1995; GRUMMER et al., 2004), porém neste mesmo momento ocorre uma redução drástica no consumo de matéria seca (CMS), impossibilitando atender essas demandas nutricionais.

A diminuição da ingestão de matéria seca pelas vacas é em torno de 20 a 40% durante o pré-parto (HAYIRLI e GRUMMER 2004), com grande declínio ocorrendo na última semana antes do parto. Essa queda no consumo de matéria seca pode ser influenciada pelo peso corporal, paridade, dias em gestação, escore de condição corporal (ECC), saúde, digestibilidade

da dieta, manejo da fazenda (superlotação nos lotes, mudanças de grupo, espaço de cocho etc.) e fatores climáticos (temperatura e umidade) (NRC, 2001; GRUMMER et al., 2004; HAYIRLI e GRUMMER 2004). A queda do CMS pré-parto e o insuficiente CMS pós-parto, juntamente com o rápido aumento na produção de leite levam a um estado de balanço energético negativo (BEN).

O BEN geralmente inicia-se alguns dias antes do parto, mas ocorre de forma mais acentuada nos primeiros dias após o parto e dura em média até a quinta semana pós-parto (GRUMMER, 1995). Em vacas leiteiras de alta produção, o BEN é agravado ainda mais pela priorização de nutrientes para a glândula mamária. Vacas em balanço energético negativo possuem um aumento no risco de desordens como mobilização de gordura corporal, perda de peso e ECC, aumento na produção de ácidos graxos não esterificados (AGNE), imunossupressão, entre outros (GRUMMER, 1995; DRACKLEY, 1999).

Devido a alterações no estado metabólico, o organismo dos ruminantes utiliza da mobilização lipídica e proteica com o objetivo de atender as exigências nutricionais. A mobilização lipídica é uma adaptação fisiológica das vacas durante o balanço energético negativo. A quebra dos triglicerídeos (moléculas de gordura) das reservas corporais, produz os ácidos graxos não esterificados e glicerol, que são utilizados pelo organismo como aporte de energia deficitária durante o BEN, permitindo o redirecionamento prioritário da glicose para a glândula mamária para a síntese de lactose (BELL, 1995; HERDT, 2000; NRC 2001).

Com o aumento da mobilização de gordura ocorre uma sobrecarga de AGNE no fígado excedendo a capacidade do órgão de oxidar completamente os ácidos graxos para fornecer energia, com isso a um aumento na produção de corpos cetônicos (principalmente β -hidroxiacetato (BHB) LEBLANC, 2010). Os ácidos graxos podem sofrer reações e se esterificar, formando novamente triglicérides, que acumulam nos hepatócitos causando fígado gorduroso (HERDT, 2000). Esse acúmulo ocorre porque as vacas produzem pouca lipoproteína de baixa densidade (VLDL) responsáveis pela exportação de triglicerídeos do fígado para a circulação e utilização em outros tecidos (BELL, 1995).

Nos últimos tempos vários produtores vêm adotando estratégias alimentares (dieta aniônica, adensamento da dieta, suplementação de aditivos) e práticas de manejo (taxa de lotação, espaço de cocho, climatização do ambiente), a fim de adaptar as vacas para a próxima lactação e amenizar os efeitos negativos durante o período de transição, principalmente no que se diz respeito ao consumo de matéria seca, balanço energético negativo e ao acometimento de doenças metabólicas (VIEIRA NETO et al., 2020).

2.1.1 Sistema imune

O sistema imune é responsável pela defesa do organismo contra agentes infecciosos, tendo como função reconhecer, atacar e destruir os patógenos que podem colocar em risco o estado homeostático de um organismo (SORDILLO, 2016; TREVISI e MINUTTI, 2018). O sistema imune dos vertebrados pode ser dividido em sistema imunológico inato e adquirido (adaptativo). Ambos os sistemas trabalham em conjunto para fornecer proteção ideal contra ameaças externas (SORDILLO, 2016).

O sistema imune inato é a primeira linha de defesa do corpo, é uma resposta rápida do organismo contra uma invasão estranha. Os principais componentes do sistema imune inato incluem as barreiras físicas e mecânicas (pele, mucosa, lágrimas, saliva etc.), fagócitos e um conjunto de células de defesas (neutrófilos, monócitos, macrófagos, linfócitos, mastócitos, basófilos, eosinófilos, células dendríticas, células natural killer) (BRANDÃO, 2016; SORDILLO, 2016)

O sistema imune adaptativo é formado ao longo da vida do animal, é uma resposta mais específica ao tipo do agente infeccioso e essa resposta pode ser aumentada pela exposição repetida ao mesmo patógeno, chamado memória imunológica (SORDILLO, 2016). A resposta imune adaptativa é composta pelos linfócitos T e B, que possuem receptores específicos em suas membranas, que reconhecem os anticorpos invasores (BRANDÃO, 2016).

Vacas leiteiras em particular são mais susceptíveis a alta incidência de doenças metabólicas e infecções durante o período parturiente (SORDILLO, 2016). De acordo com LeBlanc et al., (2006) cerca de 75% dos distúrbios de saúde de vacas leiteiras em geral ocorrem no primeiro mês após o parto. A alta suscetibilidade a doenças no pós-parto está correlacionada com o comprometimento das funções do sistema imune, devido às mudanças metabólicas e endócrinas drásticas durante o período de transição (MALLARD et al., 1998), principalmente aquelas relacionadas a queda de consumo que intensificam ainda mais a mobilização de gordura, aumentando o balanço energético negativo das vacas. Alguns autores mostram que essas mudanças causam redução das funções celulares essenciais no sistema imunológico incluindo a funcionalidade dos neutrófilos, fagocitose, proliferação de linfócitos, produção de anticorpos e concentração de imunoglobulinas no plasma (SORDILLO, 2016; NRC 2001; TREVISI e MINUTTI, 2018).

As doenças metabólicas e infecciosas ocorrem de modo conjunto, não ocorrendo em eventos isolados, ou seja, o aumento na incidência de alguma doença pode sucumbir em outros problemas de saúde (SORDILLO, 2016). As principais doenças que acometem os animais durante esse período são, hipocalcemia, cetose, fígado gorduroso, deslocamento de abomaso,

mastite e doenças uterinas (retenção de placenta, metrite e endometrite) (GRUMMER, 1995; DRACKLEY, 1999; HAYIRLI e GRUMMER, 2004; LEBLANC, 2010). A ocorrência dessas doenças pode causar redução na fertilidade e diminuição da produtividade das vacas durante o período da doença e muitas vezes durante toda a lactação (DRACKLEY 1999; LEBLANC, 2006).

2.2 Microrganismos ruminais

A eficiência dos ruminantes em usar uma variedade grande de alimentos se deve ao ecossistema microbiano ruminal altamente diversificado composto por bactérias, protozoários e fungos. O rúmen é um ambiente anaeróbico, ou seja, com baixa concentração de oxigênio, que possui condições ideais, com temperatura em torno de 38 a 41 °C, pH que varia normalmente entre 5,6 a 6,9 e o fornecimento constante de substratos para o crescimento desses microrganismos (RUSSELL, 2002; KOZLOSKI, 2019).

Microrganismos presentes no rúmen são fundamentais para a degradação de carboidratos fibrosos (CF) e não fibrosos (CNF). Para ocorrer a degradação, os microrganismos precisam primeiramente aderir e colonizar às partículas de alimentos e em seguida reduzir as complexas moléculas dos polissacarídeos e proteínas em unidades menores, como monossacarídeos e aminoácidos respectivamente, sendo possível essas moléculas serem absorvidas pelos microrganismos e então metabolizadas no meio intracelular (KOZLOSKI, 2019). Isso tudo é possível devido à capacidade dos microrganismos de produzirem enzimas extracelulares (exemplo; amilase, celulase e protease) que digerem os alimentos no rúmen, transformando os em nutrientes (ácidos graxos voláteis e proteína microbiana) para o hospedeiro (KOZLOSKI, 2019). Os principais ácidos graxos voláteis (AGV's) de cadeia curta formados no rúmen são acetato, propionato e butirato, sendo o propionato o principal precursor de glicose para os ruminantes.

Os microrganismos ruminais apresentam especificidade quanto ao tipo de substrato que degradam. O uso de uma dieta com alta concentração de fibra digestível favorece o crescimento dos microrganismos degradadores de fibra, como as celulolíticas, e pode levar um aumento do pH ruminal. No entanto, uma dieta com alta inclusão de nutrientes de rápida fermentação, como o amido, favorecem o crescimento das bactérias degradadoras de carboidratos não fibrosos, um exemplo seria as aminolíticas e proteolíticas, podendo ocasionar a queda do pH e a digestibilidade da fibra (KOZLOSKI, 2019).

A degradação da dieta também pode ser comprometida pelo pH ruminal. O valor do pH é influenciado pelo balanço entre a concentração de ácidos graxos voláteis e ácido lático provenientes da fermentação dos microrganismos e a concentração dos tamponantes como o bicarbonato, presentes na saliva e na dieta no rúmen (PLAIZIER et al., 2009). Caso ocorra situações em que há o aumento da fermentação ou falhas na absorção dos ácidos, esses podem se acumular no rúmen e causar a queda do pH ruminal e efeitos negativos sobre o desempenho e a saúde dos animais. A queda acentuada do pH pode causar acidose ruminal, queda no consumo, morte de alguns microrganismos (como, por exemplo, as bactérias fibrolíticas), gerando baixa eficiência digestiva, problemas de saúde e na produção de leite (PLAIZIER et al., 2009; KALEBICH e CARDOSO, 2017).

Algumas características da dieta podem influenciar a comunidade microbiana presente no rúmen e o processo fermentativo no período de transição. As mudanças de uma dieta com maior concentração energética e proteica durante a lactação, para uma dieta com menor contração energética e proteína, além de uma maior inclusão de fibra durante o período seco, causa alterações na microbiota e na parede do epitélio ruminal (NRC, 2001). Segundo Lima et al., (2015) existem diferenças entre os microrganismos ruminais pré e pós-parto e essa diferença está relacionada a abundâncias relativas das bactérias celulolíticas e aminolíticas.

Além disso, o produto da fermentação das bactérias, principalmente aqueles vindos das aminolíticas (propionato e butirato) podem influenciar o desenvolvimento das papilas ruminais, (NRC, 2001 *apud* DIRKSEN et al.,1985) importantes para a absorção de nutrientes, principalmente os AGV's. Essas papilas levam entorno de 4 a 7 semanas para se adaptarem a uma dieta com maior densidade energética (DERAKHSHANI et al., 2017).

Durante o pré-parto o fornecimento de uma dieta com concentração energética um pouco mais elevada em relação ao período seco tem como propósito adaptar os microrganismos do rúmen a dieta da lactação (LOPRIATO et al., 2020) e aumentar a produção de AGV's para o desenvolvimento das papilas (DERAKHSHANI et al., 2017), dessa forma buscando melhorar o desempenho animal no pós-parto.

2.3 Probióticos

Estudos em nutrição com vacas leiteiras demonstram o potencial uso de estratégias nutricionais para melhorar o consumo de matéria seca, o desempenho animal e prevenir a ocorrência de possíveis doenças durante o período de transição, como por exemplo, cetose e a hipocalcemia. Algumas estratégias nutricionais utilizadas incluem: suplementação com sais

aniônicos (SANTOS et al., 2019), aminoácidos (OSORIO et al., 2013), probióticos (SEO et al., 2010), entre outros.

Os probióticos são aditivos alimentares que usam microrganismos vivos de ocorrência natural no organismo animal, que afetam positivamente o animal hospedeiro, melhorando o equilíbrio microbiano (KALEBICH e CARDOSO, 2017), sendo esses: bactérias, fungos, leveduras ou a combinação entre eles (SEO et al., 2010). Nos Estados Unidos o termo *direct-fed microbials* (DFM) é usado pelas empresas e por grupos de pesquisa para se referir a esses suplementos a base de microrganismos. Em 1989 a *US Food and Drug Administration* (FAD) criou esse termo devido as diversas confusões feitas em relação à definição de probióticos (YANO e STERN, 1995).

O uso desses produtos em ruminantes tem sido estudado há anos, com o intuito de manipular o ecossistema microbiano, com o uso de microrganismos benéficos e mudar as características de fermentação no rúmen e no trato gastrointestinal. Entre eles, as fontes mais comuns de serem manipulados são as bactérias produtoras ou que utilizam de ácido láctico (SEO et al., 2010; MCALLISTER et al., 2011), fibrolíticas (MCALLISTER et al., 2011) e os fungos, sendo *Saccharomyces* e *Aspergillus* os gêneros mais utilizados (SEO et al., 2010; MCALLISTER et al., 2011).

Alguns dos modos de ação desses microrganismos foram relatados por Seo et al., (2010). As bactérias utilizam o lactato para a produção de AGV, principalmente o propionato, favorecendo o aumento da produção de glicose hepática, além disso, a diminuição das concentrações de lactato aumenta a estabilidade do pH ruminal e todos esses fatores contribuem para a modificação da fermentação ruminal. Os fungos também contribuem para a prevenção do excesso de ácido láctico no rúmen e ajudam no consumo do O₂ e no fornecimento de ácidos orgânicos e vitaminas, criando melhores condições para o crescimento das bactérias.

Os probióticos podem ser utilizados na dieta de ruminantes em todas as fases de criação (bezerros recém-nascidos, na fase jovem, vacas em transição e lactação). Os efeitos do uso de probióticos são variáveis e dependerá da composição microbiana do produto, quantidade e tempo de fornecimento (SEO et al., 2010). A suplementação desse produto de maneira geral pode resultar em benefícios para a saúde ruminal, bem como, alteração na fermentação, aumento na população microbiana benéfica, estabilidade do pH, degradação de nutrientes e melhorando função imunológica dos animais (FERRARETO e SHAVER 2015; NRC 2001).

Alguns estudos mostraram que o fornecimento de microbianos de alimentação direta contendo variedades de microrganismos para as vacas no período transição, resultaram no aumento do consumo alimentar, da digestão ruminal, eficiência alimentar e da produção de leite

e promove melhora da estabilidade do pH ruminal e nas funções imunes (NOCEK e KAUTZ, 2003; NOCEK e KAUTZ, 2006; LUAN et al., 2015). Uma das explicações para esses resultados é o aumento do crescimento e atividade fermentativa das bactérias desejáveis no rúmen (NOCEK e KAUTZ, 2003).

Outra abordagem interessante sobre o uso desses microrganismos na dieta das vacas no período de transição, é sobre seus benefícios para a saúde. Nocek e Kautz (2006), observaram um aumento na glicemia e uma tendência na diminuição do BHB (β -hidroxibutírate) durante a primeira semana pós-parto em vacas suplementadas com probióticos que tinham leveduras e *Enterococcus* em sua composição, durante 21 dias pré-parto até a décima semana pós parto. Para corroborar, (Luan et al., 2015) em sua pesquisa, observaram tendência do tratamento com microrganismos de ação direta em reduzir a prevalência de cetose subclínica (medida por BHBA no sangue) em vacas durante período de transição em comparação com vacas do tratamento controle. Indicando que mais glicose foi produzida, ocasionando a diminuição da mobilização de gordura do tecido adiposo e síntese de AGNE's e assim, reduzindo a sobrecarga metabólica e promovendo melhora da saúde das vacas leiteiras durante esse período.

No mesmo estudo, Luan et al., (2015) mostrou que houve um aumento das concentrações de Imunoglobulina A (IgA) no leite e a diminuição da haptoglobulina das vacas do tratamento em relação ao controle. Essa imunoglobulina tem efeitos de proteção contra infecções na glândula mamária, impedindo a adesão de patógenos nas células epiteliais. Além disso, esses mesmos autores explicaram que outro benefício do aumento das concentrações de IgA no leite, é relacionado com o aumento da saúde e proteção gastrointestinal dos bezerros por meio da transferência passiva de imunidade, já que a IgA interage com o sistema imunológico da mucosa.

3 DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO

O estágio foi realizado na Universidade Estadual da Dakota do Sul (*South Dakota State University*), localizada na cidade de Brookings, estado da Dakota do Sul nos Estados Unidos da América, no período de 10 de outubro de 2021 a 20 de março de 2022.

A orientação do estágio foi feita pelo Professor Dr. Johan Osorio, junto ao departamento *Animal Science*. Dr. Osorio é responsável pelo laboratório Osorio's Lab, com foco em nutrigenômica, interação nutriente-gene e biologia molecular buscando detectar e prevenir doenças em vacas leiteiras durante o período de transição.

As atividades desenvolvidas estavam ligadas a condução de um experimento de pesquisa conduzido na fazenda da universidade. O experimento tinha como objetivo avaliar a eficácia de um novo suplemento alimentar microbiano composto por microrganismos nativos do rúmen no desempenho da lactação, fermentação ruminal e saúde de vacas leiteiras durante o período de transição. O projeto foi financiado pela empresa Native Microbials, localizada em San Diego, Califórnia, EUA.

3.1 Descrição da Fazenda: Dairy Research and Training Facility

A Dairy Research and Training Facility (DRTF), localizada a poucos quilômetros da universidade, é um local destinado para o ensino e pesquisa. A fazenda conta com 20 alunos da graduação e dois funcionários fixos, responsáveis por quase todos os aspectos de gestão da fazenda, incluindo alimentação, ordenha, manejo, cuidados com bezerros, reprodução, entre outros.

A fazenda possui cerca de 130 vacas em lactação, da raça holandesa, com variação preto e branco e vermelho e branco, e pardo suíço. Todo o rebanho leiteiro é composto por cerca de 150 vacas adultas, incluindo 115 holandesas e 35 pardos suíço, e aproximadamente 140 novilhas de reposição.

Todo leite produzido na DRTF é processado na faculdade pelo laticínio Davis Dairy Plant. O leite cru é transportado para o laticínio duas vezes por semana para o processamento. São processados semanalmente cerca de 9000 litros de leite e os produtos lácteos produzidos são: queijos, manteiga e mais de 60 sabores de sorvetes. Esses produtos são vendidos principalmente na loja do Departamento Dairy Science e em alguns outros pontos comerciais.

3.1.1 Instalação e manejo de vacas no período seco e pré-parto

Aproximadamente 60 dias antes do parto as vacas passavam pelo processo de secagem sendo movidas para a instalação específica de vacas secas. Os animais que estão no período seco e pré-parto são mantidos no sistema de confinamento *loose housing*, com cama composta por palha de milho, que é trocada semanalmente (Figura 1). A instalação foi projetada para permitir acesso à alimentação livre ou através de sistema *Calan Gate*. As vacas recebem a mesma dieta durante todo período seco, não havendo uma dieta específica durante o pré-parto.

Após o parto, os animais permanecem nessa instalação até estarem aptos para se juntarem às outras vacas em lactação, em cerca de cinco dias. Cada animal possui uma ficha de

pós-parto e durante esse período são feitos alguns exames e avaliações clínicas como, por exemplo, aferição de temperatura retal, diagnóstico de retenção de placenta, deslocamento de abomaso, cetose, entre outros, ajudando na rápida identificação e intervenção caso necessário.

Figura 1: *Loose housing* de vacas secas e pré-parto.



Fonte: Da autora (2022).

3.1.2 Maternidade e Hospital (*West Wing*)

Essa instalação coberta possui seis baias individuais com cama coberta com feno, onde as vacas em tratamento, doentes ou de pós-parto são alojadas e ordenhadas (Figura 2). As vacas são ordenhadas utilizando um equipamento de balde ao pé e todo leite ordenhado nessa instalação é pasteurizado e fornecido para as bezerras.

Essa unidade também possui uma baia exclusiva para bezerros recém-nascidos, onde eles recebem os primeiros cuidados, como colostragem, cura de umbigo, brinco de identificação e coleta de cartilagem para exames. O fornecimento do colostro é feito utilizando uma sonda esofágica. Depois de alguns dias de vida os bezerros são levados para as casinhas individuais localizadas ao ar livre. Os machos são vendidos com poucos dias de vida.

Figura 2: Maternidade e Hospital (West Wing).



Fonte: Da autora (2022)

3.1.3 Instalação e manejo de bezerras em aleitamento.

As bezerras são criadas individualmente no sistema *Calf-Tel* até os dois meses de idade, onde recebem aproximadamente oito litros de leite pasteurizado por dia durante 7 semanas (Figura 3). Uma semana antes do desaleitamento as bezerras recebem quatro litros por dia apenas na parte da manhã. A água e a ração são trocadas duas vezes ao dia e o consumo de ração é mensurado e registrados diariamente, o fornecimento da ração é conforme a sobra. Após o desmame os animais são transferidos para um piquete coletivo.

Figura 3: Sistema *Calf-Tel*.



Fonte 1: Da autora (2021)

3.1.4 Instalação e manejo da recria

As novilhas mais velhas são alojadas em lotes externos (piquete ou em *loose housing*) onde possuem canzil na linha de cocho, que também servem para auxiliar no manejo dos animais como, por exemplo, inseminação, diagnóstico de gestação, protocolos, vacinação, entre outros (Figura 4). As novilhas começam sua vida reprodutiva com 12 meses sendo inseminadas até 16 meses. A inseminação é feita com sêmen sexado ou embrião, determinado de acordo com o grau genético da novilha.

Figura 4: Novilhas de reposição.



Fonte: Da autora (2022).

3.1.5 *Free stall* para as vacas em lactação

As vacas em lactação ficam alojadas em um sistema de confinamento *free stall/milking center*, esta unidade possui no total 142 camas divididas por igual em 4 lotes, as camas são compostas por feno picado e repostas diariamente. Em dois desses lotes, as vacas (em experimento ou não) podem ter acesso à comida por meio do canzil de alimentação (Figura 5). Os outros lotes permitem o monitoramento da ingestão individual de matéria seca por meio do sistema de portão eletrônicos, *Calan gates*. A instalação é equipada com ventiladores e aspersores para o resfriamento no verão, além disso, contém ventilação natural fornecida através das paredes laterais cortinadas. Durante os meses mais frios, as cortinas ficam

abaixadas e de modo a evitar o congelamento da água, todos os bebedouros possuem aquecedores.

Figura 5: *Free stall* das vacas em lactação.



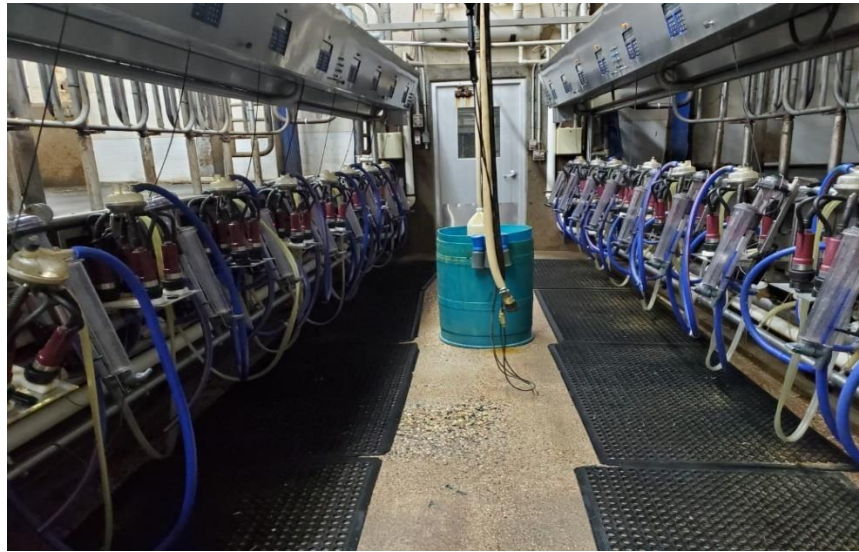
Fonte: Gustavo Begalli (2021).

3.1.6 Sala de Ordenha

Diariamente são realizadas duas ordenhas, as 5h30 e 17h30, em uma sala de ordenha do tipo paralelo, linha baixa duplo 8, com extrator (Figura 6). Nessa instalação só são ordenhados animais livres de antibióticos, os animais em tratamento são levados para o *West Wing*. A sala de espera é equipada com aspersores, ventiladores, aquecedores e tocador automático para levar as vacas até a ordenha.

A ordenha possui medidores eletrônicos e sistema de identificação que coletam dados diários sobre a produção de leite de cada vaca. Essas e outras informações zootécnicas são transmitidas e processadas para dois softwares de gerenciamento de dados *DeLaval Delpro* e *Dairy Record Management Services*.

Figura 6: Sala de ordenha



Fonte: Da autora (2021).

3.1.7 Alimentação

A dieta da fazenda consiste principalmente: silagem de milho e pré secado de alfafa, armazenados em trincheira e silo do tipo bag; feno de alfafa, feno de aveia; caroço de algodão, armazenados em boxes e concentrados a base de farelo de soja e milho moído, armazenados em silos verticais. As dietas dos animais são misturadas em um vagão com rosca vertical (NDE 2653). Para os animais não lactantes (vacas no período seco e novilhas) é utilizado um vagão com esteira (Kelly Ryan - *Standard Model Feedwagon*) para a distribuição da comida.

4 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

O projeto de pesquisa ocorreu de março de 2021 até fevereiro de 2022 e tinha como objetivo avaliar a eficácia de um novo suplemento alimentar microbiano composto por microrganismos nativos do rúmen no desempenho da lactação, fermentação ruminal e saúde de vacas leiteiras durante o período de transição.

Este estudo avaliou os efeitos de um novo produto (*Galaxis™ Frontier (GF); Native Microbials*, California, USA). O produto é composto por quatro cepas de microrganismos ruminais originalmente isolados de vacas leiteiras de alto desempenho, sendo eles: *Clostridium beijerinckii*, *Pichia kudriavzevii*, *Ruminococcus bovis* e *Butyrivibrio fibrisolvens*.

O experimento iniciou com 72 vacas da raça holandesa, sendo 15 primíparas e 57 multíparas. Os animais foram blocados de acordo com a data prevista para o parto, número de lactação e produção de leite na lactação anterior. No caso de vacas primíparas, o mérito genético foi utilizado como critério de blocagem. No critério de exclusão 16 animais foram removidos do experimento devido a: parto prematuro (mais de 14 dias em relação à data prevista de parto) (n=2); morte (n=1); aborto (n=1); deslocamento de abomaso (n=3); parto gemelar (n=2); mastite (n=1); cetose (n=1); pneumonia (n=1) e outros (n=4).

As vacas eram movidas para o lote de pré-parto utilizado para o experimento 25 ± 3 dias antes da data prevista para o parto, para se adaptarem ao uso o sistema *Calan Gate* de alimentação individual. No dia -25, cada animal recebia um transponder (Figura 7) que permitia acesso a um portão específico.

Figura 7: Transponder individual



Fonte: Da autora (2022).

Todas as vacas recebiam a mesma dieta desde 21 ± 3 dias pré-parto até o dia do parto. Após o parto, os animais imediatamente passavam a receber a dieta de lactação até 140 dias em leite. Aos 21 dias pré-parto, as vacas foram aleatoriamente designadas para uma dieta basal com a inclusão de 150 g/d de milho moído (Controle; n=29) ou uma dieta basal com a inclusão de 150 g/d de milho e 5 g/d *Galaxis Frontier* (GF; n=27) até o final do período experimental (140 DEL). O produto utilizado era embalado em pacotes diários e armazenados a 4 °C. Diariamente, 5 g do produto foram pesados para cada animal do grupo GF e fornecido de modo *top-dress* sob a dieta total (TMR), uma vez ao dia, junto com o fornecimento da alimentação. Sobre os respectivos *Calan gates*, os animais recebiam uma placa de identificação contendo o seu

número e o grupo experimental. A identificação do tratamento era feita por cores, em que vermelho designava animais do grupo *Galaxis Frontier* e o verde designava animais do grupo controle. Os potes utilizados para a pesagem dos tratamentos também eram identificados com as respectivas cores (Figura 8).

Figura 8: Tratamento Galaxis Frontier (vermelho) e Controle (verde)



Fonte: Da autora (2022).

Por volta das 4h00 da manhã, as sobras de TMR eram individualmente pesadas utilizando um carrinho de mão com balança. Para cada animal, a quantidade de TMR era ajustada diariamente com o intuito de manter pelo menos 10% de sobra. Os animais eram alimentados uma vez ao dia por volta das 6h00 da manhã, sendo que a dieta formulada para as vacas durante o pré parte e a lactação está descrita na tabela 1. A distribuição individual da dieta era feita utilizando o *Data Range*, e a quantidade de comida fornecida era registrada para posterior cálculo do consumo diário (Figura 9).

Tabela 1: Composição das dietas usadas para as vacas durante o pré-parto e a lactação.

	Pré-parto	Lactação
Ingredientes (% MS)		
Silagem de milho ¹	40.2	34.6
Feno de gramínea	21.7	-
Feno de alfafa	-	14.6
Caroço de algodão	-	7.2
Melaço	-	4.7
Palha de aveia	10.1	2.7
Mix lactação ²	-	36.3
Pré parto mix ³	28	-
Composição química (% MS)		
MS	47.8	50.1
PB ⁴	15.0	16.9
EE ⁵	3.6	5.1
FDN ⁶	41.8	30.2
FDA ⁷	27.1	20
Amido	15.1	25.4
NEL (Mcal/Kg de MS)	1.3	1.7
DCAD ⁸ (mEq/Kg de MS)	-84.2	198

¹ Silagem de milho = 27,8% MS, 7,3% PB, 42,5% FDN, 32% amido.

² Mix lactação (%MS) – 49,8% milho moído fino, 19,9% farelo de soja, 14% soja grão, 4,4% DDG, 3% bicarbonato de sódio, 2,7% calcário, 1,9% Energy booster 100, 1,0% sal branco, 0,9% ureia 281 PB, 0,6% casca de soja moída, 0,6% óxido de magnésio, 0,6% monofosfato de cálcio, 0,2% premix JPW dairy TM⁹, 0,2% premix vitamínico JPW Dairy¹⁰ e 0,1% Vitamina E.

³ Mix pré-parto (%MS) – 44,7% farelo de soja, 13,1% DDG, 11,5% casca de soja moída, 8,4% calcário, 6,8% Bio-chlor, 4,8% milho moído fino, 2,1% sulfato de magnésio, 1,6% colina, 1,4% cloreto de cálcio, 1,4% óxido de magnésio, 0,9% vitamina E, 0,9% sulfato de cálcio desidratado, 0,6% monofosfato de cálcio, 0,6% premix vitamínico JPW Dairy¹⁰, 0,5 % premix de cromo 4%, 0,4% sal branco, 0,4% premix JPW Dairy TM⁹.

⁴ PB = Proteína bruta. ⁵ EE = Extrato etéreo. ⁶ FDN = Fibra em detergente neutro. ⁷ FDA = Fibra em detergente ácido. ⁸ DCAD = diferença catiônica-aniônica ((Na⁺ + K⁺) - (Cl⁻ + S²⁻)).

⁹ Premix JPW Dairy TM: 11.7 % Ca (MS), 1.96 % S, 10,527 mg/kg de Fe, 63,158 mg/kg de Zn, 12,632 mg/kg de Cu, 63,158 mg/kg de Mn, 325 mg/kg de Se, 632 mg/kg de Co, e 1,053 mg/kg de I (JPW Nutrition, Sioux Falls, SD)

¹⁰ Premix vitamínico JPW Dairy: 25.8 % Ca (MS) 1,545 IU/kg de Vitamina A, 387 IU/kg de Vitamina D, e 4,826 IU/kg de Vitamina E (JPW Nutrition, Sioux Falls, SD).

Figura 9: Boxes de alimentação



Fonte: Da autora (2021).

Semanalmente, eram coletadas amostras de ingredientes da dieta (forragens e concentrados) e TMR e armazenados a -20°C até serem analisadas. As amostras serão enviadas para análise de matéria-seca, FDN, FDA, proteína bruta, extrato etéreo através de análises química por um laboratório comercial (Dairy One, Ithaca, USA). Além disso, amostras de forragem eram coletadas semanalmente para análise de matéria-seca (105°C por 24 horas) a fim de ajustar a proporção de ingredientes na dieta com base na MS. Por fim, uma amostra de TMR era coletada semanalmente para avaliação da distribuição de partículas utilizando um conjunto de peneiras Penn State (PSPS).

As vacas do experimento eram ordenhadas duas vezes ao dia, por volta das 06h00 e 18h00. A produção de leite foi registrada manualmente a cada ordenha até 140 DEL. Uma vez por semana durante duas ordenhas consecutivas, foram coletadas amostras de leite de todas as vacas em experimento. Eram coletadas duas amostras por vaca em cada ordenha, uma contendo conservante Bronopol e outra sem. As amostras que continham o conservante eram enviadas semanalmente para um laboratório comercial (Dairy One, Ithaca, USA) para mensuração de gordura do leite, proteína, lactose, sólidos totais, nitrogênio ureico no leite (NUL) e contagem de células somáticas (CCS). As amostras sem conservante eram armazenadas em um freezer a -20°C por questão de segurança, para futuras análises.

O peso corporal era medido semanalmente para cada vaca, utilizando uma balança (*TRINER SCALE TS-70055*) (Figura 10) e o escore de condição corporal (ECC) era registrado por 2 indivíduos utilizando uma escala de 1 a 5, sendo 1 vaca extremamente magra e 5 para vaca extremamente gorda, com variações de 0,25 pontos (WILDMAN et al., 1982). O escore médio foi usado para análise estatística.

Figura 10: Pesagem.



Fonte: Da autora (2022).

Para análises de digestibilidade aparente do trato total, eram coletadas amostras individuais de TMR, sobras de TMR e fezes, e para análise de derivados de purina e creatinina, eram coletadas amostras individuais de urina. As amostras de fezes e urina eram coletadas em diferentes tempos (6 em 6 horas e a cada 18 horas, respectivamente), ao longo de 3 dias consecutivos, sendo eles nos dias -25; -14; -7; 7; 14; 140 ± 3 em relação ao parto. Eram pesadas 50 g de fezes e congeladas imediatamente a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ao longo do período de coleta, sendo feita uma composta por vaca por cada período de coleta. Duas alíquotas de urina (20 mL) eram armazenadas em tubos individuais, um contendo 160 mL de ácido clorídrico (HCl) e outra sem

solução de HCl para futuras análises (Figura 11). As amostras de sobra da TMR foram coletadas antes da retirada das sobras e a TMR depois da distribuição da dieta.

Figura 11: Amostra de fezes e urina.



Fonte: Da autora (2022).

Amostras de sangue foram coletas durante o pré e pós-parto. As amostras do pré-parto eram coletadas duas vezes por semana a partir do dia -22 ± 3 até o parto. Do pós-parto até 30 ± 3 DEL, as amostras passavam a ser coletadas três vezes por semana. As coletas foram feitas através da punção da veia ou artéria coccígea antes da alimentação da manhã, em tubos de vácuo, um tubo contendo heparina para obtenção de plasma e outro não contendo anticoagulante para obtenção de soro (Figura 12). Após a coleta, os tubos que continham heparina eram armazenados em uma caixa de isopor com gelo e os tubos para soro eram mantidos em temperatura ambiente até serem centrifugados. O soro e o plasma eram obtidos a partir da centrifugação a $1.300 \times g$ por 15 min em uma temperatura de 21°C e 4°C , respectivamente. As amostras eram armazenadas a -80°C e serão enviadas a um laboratório comercial para análise de marcadores de energia (NEFA, BHBA, glicose), inflamação (ceruloplasmina e haptoglobina), função hepática (albumina, colesterol, bilirrubina, aspartato aminotransferase (AST), γ -glutamilttransferase (GGT) e paraoxanase (PON)), catabolismo de massa muscular (ureia e creatinina) e estresse oxidativo [ROS (espécies reativas de oxigênio)].

Figura 12: Amostras de sangue



Fonte: Marcela Bulnes (2021).

As coletas de líquido ruminal ocorreram 5 horas após a alimentação, nos dias -22, -14, -7, 1, 7, 14, 21, 70 e 100 ± 3 relativos ao parto, utilizando uma sonda de tubo esofágico. As primeiras 200 mL de líquido eram descartadas para diminuir a contaminação por saliva e em seguida coletava-se 100 mL de líquido ruminal. Após a coleta, o pH era medido imediatamente usando um pHmetro (*Waterproof pH Test 30, Oakton Instruments*). Se o valor do pH fosse maior que 7, assumia-se que havia contaminação por saliva e uma segunda amostra era coletada. Foram coletadas duas amostras contendo 10 mL de fluido ruminal cada e adicionados uma em um tubo contendo com 200 μ L de uma solução de ácido sulfúrico a 50% e outra em 2 mL ácido metafosfórico a 25% e então armazenados -20 °C para análises de N amônia ($\text{NH}_3\text{-N}$) e ácido graxos voláteis (AGV), respectivamente (Figura 13). Além disso, foram coletadas duas amostras (2 mL) para análise de composição de microbioma, uma sendo congelada em nitrogênio líquido e a outra armazenada a -80 °C.

Figura 13: Amostras de líquido ruminal.



Fonte: Marcela Bulnes (2021)

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A oportunidade de fazer um estágio nos Estados Unidos foi de grande importância para a minha vida profissional e para meu desenvolvimento pessoal, pois tive a oportunidade de trabalhar e ajudar na condução de experimentos com vacas leiteiras, me agregando mais conhecimentos na área que serão imprescindíveis para meu futuro profissional e acadêmico. Pude acompanhar o dia a dia de uma fazenda americana e entender melhor como ocorre seu funcionamento, tendo um convívio direto no manejo de vacas leiteiras e nos demais setores da fazenda. Tive a oportunidade de conviver com pessoas de diferentes nacionalidades e culturas, além de ter uma vivência prática com um novo idioma.

Também foi possível acompanhar algumas disciplinas da graduação (Fisiologia da lactação de vacas leiteiras e Produção animal) e conhecer duas grandes fazendas produtoras de leite na região de Brookings/SD, visitadas durante o período de aulas, contribuindo para ampliar e complementar minha formação acadêmica.

Além disso, ao final do meu estágio, passei alguns dias no laticínio da universidade, onde aprendi como é feito o processamento do leite após sair da fazenda e todas as etapas para se produzir um sorvete, desde preparação da base (chocolate ou baunilha) até o processo de embalagem, onde nessa etapa também era realizado a mistura dos sabores (frutas, chocolate, caramelo, bolachas etc.) na base.

REFERÊNCIAS

- BELL, A. W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal of Animal Science**, v.73, p.2820-2833, 1995.
- BRANDÃO, A.P. Impactos dos principais aspectos do período de transição sobre a produção de leite e resposta inflamatória de vacas leiteiras. 2016. 129 p. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Campus de Botucatu. Botucatu, 2016.
- CHEBEL, R. C. Associations between days on close-up diets and immune responses prepartum, metabolites peripartum, and risk of postpartum diseases in Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 6, p. 7135-7153, 2021.
- DERAKHSHANI, H., TUN H.M., CARDOSO F.C., PLAIZIER J.C., KHAFIPOUR, E., e LOOR, J.J. Linking periparturient dynamics of ruminal microbiota to dietary changes and production parameters. **Frontiers Microbiology**. 7:2143. 10.3389/fmicb.2016.02143. 2017.
- DRACKLEY J. K. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? **Journal of Dairy Science**. v. 82, n. 11, p. 2259-2253, 1999.
- FERRARETTO, L.F, e SHAVER, R.D. Effect of direct fed microbial supplementation on lactation performance and total-tract starch digestibility by midlactation dairy cows. **The Professional Animal Scientist**. v. 31, n. 1, p. 63-67, 2015.
- GRUMMER, R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal Animal Science**. v. 73, n. 9, p. 2820-2833, 1995
- GRUMMER, R. R., MASHEK, D. G., e HAYIRLI, A. Dry matter intake and energy balance in the transition period. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. v.20, n.3, p. 447- 470, 2004.
- HAYIRLI, A. e GRUMMER, R. R. Factors affecting dry matter intake prepartum in relationship to etiology of peripartum lipid-related metabolic disorders: A review. **Canadian Journal of Animal Science**. v. 84, n. 3, p.337-347, 2004.
- HERDT, T. H. Ruminant adaptation to negative energy balance: Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 16, n. 2, p. 215-230, 2000.

KALEBICH, C.C. e CARDOSO, F.C. Effects of direct-fed microbials on feed intake, milk yield, milk composition, feed conversion, and health condition of dairy cows. In: **Nutrients in Dairy and their Implications on Health and Disease**. Academic Press. p. 111-121, 2017.

KOZLOSKI, G.V., Bioquímica dos ruminantes. **Fundação de Apoio a Tecnologia e Ciência -Editora UFSM**, 3.ed. 2019.

LEBLANC, S. J., LISSEMORE, K. D., KELTON, D. F., DUFFIELD, T. F. e LESLIE, K. E. Major advances in disease prevention in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**. v. 89, n. 4, p. 1267-1279, 2006.

LEBLANC, S. J. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. **Journal of Reproduction and Development**, v. 56, s29–s35, 2010

LIMA, F. S., OIKONOMOU, G., LIMA, S. F., BICALHO, M. L. S., GANDA, E. K., FILHO, J. C., LORENZO, G., TROJACANEC, P. e BICALHO, R. C. Parturition and postpartum rumen fluid microbiomes: characterization and correlation with production traits in dairy cows. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 81, n. 4, p. 1327-1337, 2015.

LUAN, S., DUERSTELER, M., GALBRAITH, E. A. e CARDOSO, F. C. Effects of direct-fed *Bacillus pumilus* 8G-134 on feed intake, milk yield, milk composition, feed conversion, and health condition of pre- and postpartum Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 9, p. 6423-6432. 2015.

LOPREIATO, V., MEZZETTI, M., CATTANEO, L., FERRONATO, G., MINUTI, A., e TREVISI, E. Role of nutraceuticals during the transition period of dairy cows: a review. **Journal Animal Science Biotechnology**. v. 11, n. 1, p. 1-18, 2020.

MALLARD, B. A., DEKKERS, J. C., IRELAND, M. J., LESLIE, K. E., SHARIF, S., VANKAMPEN, C. L., WAGTER, L. e WILKIE, B. N. Alteration in immune responsiveness during the peripartum period and its ramification on dairy cow and calf health. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 2, p. 585-595, 1998.

MCALLISTER, T. A., BEAUCHEMIN, K. A., ALAZZEH, A. Y., BAAH, J., TEATHER, R. M., & STANFORD, K. The use of direct fed microbials to mitigate pathogens and enhance production in cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 91, n. 2, p. 193-211, 2011.

- MICHELOTTI, T. An exploration of the effects of an early postpartum intravenous infusion with carnolic acid on physiological responses of transition dairy cows. 2021.103p. **Tese** (Master of Science in Biological Sciences) - South Dakota State University, 2021.
- NOCEK, J. E., KAUTZ, W. P., LEEDLE, J. A. Z., e BLOCK, E. Direct-fed microbial supplementation on the performance of dairy cattle during the transition period. **Journal Dairy Science**. v. 86, n. 1, p.331 -335, 2003.
- NOCEK, J. E. e KAUTZ, W. P. Direct-fed microbial supplementation on ruminal digestion, health, and performance of pre- and postpartum dairy cattle. **Journal Dairy Science**. v. 86, n. 1, p.260 -266, 2006.
- NRC. Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Seventh Revised Edition. **The National Academies Press**, Washington, DC, 2001.
- OSORIO, J. S., JI, P., DRACKLEY, J. K., LUCHINI, D., e LOOR, J. J. Supplemental Smartamine M or MetaSmart during the transition period benefits postpartal cow performance and blood neutrophil function. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 10, p. 6248-6263, 2013.
- PLAIZIER, J. C., KRAUSE, D. O., GOZHO, G. N., e MCBRIDE, B. W. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence, and consequences. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 21-31, 2008.
- RUSSELL, J. B. Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition. **Department of Microbiology**, Cornell University, 2002.
- SANTOS, J. E. P., LEAN, I. J., GOLDBERGER, H., e BLOCK, E. Meta-analysis of the effects of prepartum dietary cation-anion difference on performance and health of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 3, p. 2134-2154, 2019.
- SEO, J. K., KIM, S. W., KIM, M. H., UPADHAYA, S. D., KAM, D. K., e HA, J. K. Direct-fed microbials for ruminant animals. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 23, n. 12, p. 1657-1667, 2010.
- SORDILLO, L. M. Nutritional strategies to optimize dairy cattle immunity. **Journal Dairy Science**. v. 99, n. 6, p. 4967-4982, 2016.
- VIEIRA-NETO, A., DUARTE, G. A., ZIMPEL, R., THATCHER, W. W., e SANTOS, J. E. P. Days in the prepartum group are associated with subsequent performance in Holstein cows. **Journal Dairy Science**. v. 104, n.5, p. 5964–5978, 2020.

WILDMAN, E. E., JONES, G. M., WAGNER, P. E., BOMAN, R. L., TROUTT JR, H. F., e LESCH, T. N. A dairy-cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal Dairy Science**. v. 65, n.3, p. 495–501, 1982.

YOON, I. K., e STERN, M. D. Influence of direct-fed microbials on ruminal fermentation and performance of ruminants: a review. **Australian Journal Animals Science**. v.8, n.6, p. 533–555, 1995.