



**CECÍLIA DONATA SILVA DE OLIVEIRA**

**COMPORTAMENTO DE RUMINAÇÃO E INGESTÃO DE VACAS  
LEITEIRAS DURANTE UM PROTOCOLO DE INDUÇÃO DE ACIDOSE RUMINAL**

**LAVRAS – MG  
2023**

**CECÍLIA DONATA SILVA DE OLIVEIRA**

**COMPORTAMENTO DE RUMINAÇÃO E INGESTÃO DE VACAS  
LEITEIRAS DURANTE UM PROTOCOLO DE INDUÇÃO DE ACIDOSE RUMINAL**

Trabalho de conclusão de curso  
apresentado à Universidade Federal de  
Lavras, como parte das exigências do  
Curso de Zootecnia, para a obtenção do  
título de Bacharel.

Prof. Dr. Marcos Neves Pereira  
Orientador

**LAVRAS – MG  
2023**

**COMPORTAMENTO DE RUMINAÇÃO E INGESTÃO DE VACAS  
LEITEIRAS DURANTE UM PROTOCOLO DE INDUÇÃO DE ACIDOSE RUMINAL**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à  
Universidade Federal de Lavras, como parte  
das exigências do Curso de Zootecnia, para a  
obtenção do título de Bacharel.

APROVADO em 07 de Dezembro de 2023

Dr. Marcos Neves Pereira DZO/UFLA

Dr. Rayana Brito da Silva / BETTER NATURE RESEARCH

Dr. Renata Apocalypse Nogueira Pereira/ EPAMIG

Prof. Dr. Marcos Neves Pereira Orientador

**LAVRAS – MG**

**2023**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por sempre me guiar e por colocar pessoas tão especiais na minha vida. Agradeço aos meus pais, Maria e Raimundo por todo apoio e suporte durante minha graduação, sem eles nada do que construí seria possível. Agradeço aos amigos que conquistei e por todos os momentos de convivência e troca de experiências. Agradeço a todos da fazenda São Francisco, pela acolhida durante o período experimental e todo auxílio na realização deste trabalho. Agradeço à Universidade Federal de Lavras, a todos os professores e colaboradores pelas contribuições no meu processo de formação profissional. Agradeço aos membros da banca, Dr. Renata Apocalypse Nogueira Pereira e Dr. Rayana Brito da Silva pela disponibilidade e atenção. Agradeço ao Grupo do Leite e ao professor Marcos Neves por todo conhecimento transmitido durante todos esses anos. Por fim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para minha formação profissional e pessoal. Muito obrigado!

## RESUMO

A Acidose Ruminal Subaguda (SARA) é uma condição preocupante na criação de vacas leiteiras, resultante do consumo excessivo de carboidratos. Entre os principais desafios relacionados à SARA está a dificuldade de identificar os sintomas. Alterações no comportamento animal podem auxiliar no diagnóstico de doenças; tais mudanças podem ser mais evidentes no comportamento de alimentação e ruminação dos animais. O presente trabalho tem como objetivo avaliar a atividade mastigatória de vacas leiteiras submetidas a um protocolo de indução de acidose ruminal e a correlação entre observações de ruminação obtidas visualmente e pelo acelerômetro. Vinte e duas vacas da raça Holandesa ( $36,7 \pm 6,8$  kg/d de leite,  $122 \pm 71$  dias em lactação,  $579 \pm 62$  kg de peso corporal) foram submetidas a dois protocolos de indução de acidose, sendo 21 dias de adaptação à dieta e 14 dias de coleta de dados (consumo de matéria seca e a ruminação pelo acelerômetro foram mensurados do dia 22 ao 35, e a atividade mastigatória do dia 33 ao 35). No dia 29, as vacas não tiveram acesso à alimentação a partir das 19:00 h. No dia 30, a concentração de amido na dieta foi aumentada pela substituição de pellets de polpa cítrica por silagem de milho reidratado, e as vacas foram alimentadas ad libitum às 07:00 h do dia seguinte. No dia 32, uma segunda restrição alimentar foi realizada. A dieta rica em amido foi fornecida dos dias 30 ao 35 de cada período.

Os dados foram analisados com o modelo Mixed do SAS, incluindo efeitos fixos de acidose, dia e interação entre acidose e dia. A significância foi declarada para  $P \leq 0,05$ , e as tendências para  $0,05 < P \leq 0,10$ . O consumo de matéria seca (20,3 vs 19,7 kg/d), a primeira refeição (73,4 vs 66,3 min), o tempo de ruminação obtido pelo acelerômetro (490,9 vs 475,7 min/d), o tempo de ingestão visual (339,7 vs 313,3 min/d), o tamanho da refeição (2,6 vs 2,2 kg MS/refeição) e a duração da refeição mais longa (92,5 vs. 68,0 min/refeição) foram menores durante o segundo protocolo de acidose ( $P < 0,01$ ). A ingestão (15,1 vs 16 min/kg CMS) e ruminação (19,7 vs 22,5 min/kg CMS) foram menores durante o primeiro protocolo de indução de acidose ( $P \leq 0,03$ ). Durante o segundo protocolo, foi observada uma tendência de queda na duração da refeição (43,2 vs 40,0 min/refeição;  $P = 0,08$ ) e no tempo de refeição (361,7 vs 333,0 min/d;  $P = 0,06$ ) em comparação ao primeiro protocolo de

acidose. Não houve efeito de acidose para o tempo de ruminação visual (min/d), a frequência de refeição e o momento da refeição mais longa ( $P \geq 0,21$ ). O tempo de ruminação min/kg CMS obtido pelo acelerômetro apresentou uma melhor correlação com os dados observados visualmente ( $r^2 = 0,54$ ). A correlação entre as mensurações pelo acelerômetro e visualmente na unidade min/d foi baixa ( $r^2 = 0,19$ ). A queda no consumo de matéria seca e as alterações na atividade mastigatória durante os protocolos de indução de acidose evidenciam que os animais foram mais responsivos aos desafios impostos durante o segundo protocolo. Houve uma melhor correlação do tempo de ruminação em min/kg CMS entre os dados obtidos pelo acelerômetro e visualmente.

**Palavras-chave:** Acidose, Amido, Comportamento ingestivo, Restrição alimentar.

## ABSTRACT

Subacute Ruminant Acidosis (SARA) is a concerning condition in dairy cow management, resulting from excessive carbohydrate intake. Among the main challenges related to SARA is the difficulty in identifying symptoms. Changes in animal behavior can aid in disease diagnosis; such changes may be more evident in the feeding and rumination behavior of the animals. The present study aims to evaluate the chewing activity of dairy cows subjected to a ruminal acidosis induction protocol and the correlation between visually observed rumination and accelerometer data.

Twenty-two Holstein cows ( $36.7 \pm 6.8$  kg/d of milk,  $122 \pm 71$  days in lactation,  $579 \pm 62$  kg body weight) underwent two acidosis induction protocols, with 21 days of diet adaptation and 14 days of data collection (dry matter intake and rumination via accelerometer were measured from day 22 to 35 and chewing activity from day 33 to 35). On day 29, cows were denied access to feed starting at 7:00 PM. On day 30, the starch concentration in the diet was increased by replacing citrus pulp pellets with rehydrated corn silage, and cows were fed ad libitum at 7:00 AM the next day. On day 32, a second feed restriction was implemented. The high-starch diet was provided from days 30 to 35 of each period.

The data were analyzed using the SAS Mixed model, including fixed effects of acidosis, day, and the interaction between acidosis and day. Significance was declared for  $P \leq 0.05$ , and trends for  $0.05 < P \leq 0.10$ . Dry matter intake (20.3 vs 19.7 kg/d), the first meal (73.4 vs 66.3 min), accelerometer-recorded rumination time (490.9 vs 475.7 min/d), visual feeding time (339.7 vs 313.3 min/d), meal size (2.6 vs 2.2 kg DM/meal), and the duration of the longest meal (92.5 vs 68.0 min/meal) were lower during the second acidosis protocol ( $P < 0.01$ ). Intake (15.1 vs 16 min/kg DMI) and rumination (19.7 vs 22.5 min/kg DMI) were lower during the first acidosis induction protocol ( $P \leq 0.03$ ). During the second protocol, there was a trend towards a decrease in meal duration (43.2 vs 40.0 min/meal;  $P = 0.08$ ) and feeding time (361.7 vs 333.0 min/d;  $P = 0.06$ ) compared to the first acidosis protocol. There was no acidosis effect on visual rumination time (min/d), meal frequency, and the timing of the longest meal ( $P \geq 0.21$ ). The rumination time in min/kg DMI recorded by the accelerometer showed a better correlation with visually observed data ( $r^2 = 0.54$ ). The correlation between accelerometer and visual measurements in min/d was low ( $r^2 = 0.19$ ). The decrease in

dry matter intake and changes in chewing activity during the acidosis induction protocols highlight that the animals were more responsive to the challenges imposed during the second protocol. There was a better correlation of rumination time in min/kg DMI between data obtained by the accelerometer and visual observations.

**Keywords:** Acidosis, Starch, Ingestive behavior, Feed restriction.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>REFERÊNCIAL TEORICO.....</b>	<b>2</b>
<b>2.1</b>	<b>Acidose Ruminal Subaguda.....</b>	<b>2</b>
<b>2.2</b>	<b>Comportamento ingestivo.....</b>	<b>4</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>6</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>9</b>
<b>5</b>	<b>Tabelas e figuras.....</b>	<b>12</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>23</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Visando suprir a elevada demanda nutricional de vacas leiteiras de alta produção, é comum fornecer dietas com alto teor de alimentos concentrados, especialmente carboidratos de rápida fermentação, como o amido. Contudo, tais modificações na dieta podem acarretar desequilíbrios no ambiente do rúmen devido ao elevado teor de carboidrato em detrimento da fibra fisicamente efetiva da dieta.

A presença adequada de fibra fisicamente efetiva é crucial para a saúde do rúmen. Ela estimula a ruminação, aumentando assim a produção de saliva e a motilidade ruminal, auxiliando no tamponamento do rúmen (Yang e Beauchemin, 2007). Dietas com elevada concentração de carboidratos de rápida fermentação podem ocasionar o acúmulo de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), o que pode desencadear a redução do pH ruminal (DeVries et al., 2009).

O ambiente ruminal, quando em desequilíbrio associado com a baixa capacidade de tamponamento, pode aumentar o risco de surgimento da acidose ruminal subaguda (SARA). Uma das principais preocupações relacionadas à SARA é a dificuldade em identificar sintomas clínicos (DeVries et al., 2009). Alterações no comportamento alimentar, como redução no consumo de matéria seca (CMS), podem ser um indicativo deste distúrbio.

A depressão do CMS pode ser um sintoma difícil de identificar em animais agrupados em lotes; para esses animais, alterações no comportamento alimentar podem ser mais apropriadas (DeVries et al., 2009). Monitorar os padrões de alimentação pode tornar-se uma técnica vantajosa para prever o surgimento de distúrbios metabólicos antes que outros sintomas clínicos se tornem evidentes (Owens et al., 1998). O pH do rúmen é afetado pelo tempo que o animal passa ruminando, e o período dedicado a essa atividade pode ser utilizado como indicador de saúde ruminal (Krause e Oetzel, 2006). Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo avaliar atividade mastigatória de vacas leiteiras submetidas a um protocolo de indução de acidose ruminal e a correlação entre observações de ruminação obtidas visualmente e pelo acelerômetro.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Acidose Ruminal Subaguda

A acidose ruminal subaguda (SARA) é um distúrbio metabólico que afeta principalmente vacas leiteiras em sistemas de confinamento. Devido à sua alta demanda nutricional, é comum fornecer dietas ricas em concentrados, especialmente carboidratos de rápida fermentação, como o amido (Nagaraja e Titgemeyer, 2007). A presença de amido na dieta pode aumentar significativamente a produção de leite. Contudo, o aumento desses carboidratos fermentáveis em detrimento da fibra fisicamente efetiva pode tornar os animais mais propensos a desenvolverem distúrbios metabólicos, como a SARA (Yang e Beauchemin, 2007).

O tamanho das partículas na dieta das vacas leiteiras é um conceito crucial, pois desempenha um papel fundamental na manutenção da saúde do rúmen. A presença de fibra fisicamente efetiva (peFDN) é essencial para estimular o processo de ruminação. Conforme descrito por Beauchemin K. A., (2018), a ruminação estimula a secreção de saliva, um importante tampão para o rúmen, auxiliando na manutenção do pH ruminal. O tempo de ruminação adequado pode ser um aliado no controle de SARA. A ruminação otimiza a digestão de fibra e aumenta o consumo de alimentos em vacas leiteiras; todavia, o comportamento de ruminação é afetado por fatores relacionados à composição química e física da dieta. O processo de ruminação é desencadeado por receptores de distensão situados na superfície luminal do retículo-rúmen; estímulos táteis leves e distensão baixa a moderada são capazes de iniciar o processo de ruminação. Além disso, a peFDN também promove a motilidade ruminal, garantindo que os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) produzidos durante a fermentação entrem em contato com o epitélio do rúmen, onde podem ser absorvidos de maneira eficaz (Yang e Beauchemin, 2007).

O amido é fermentado no rúmen, gerando em sua grande maioria o propionato. A velocidade de degradação depende da fonte de amido e do tipo de processamento do grão. O tratamento com calor e pressão, redução do tamanho de partícula e o armazenamento do grão com alta umidade podem acelerar a fermentação do amido no rúmen, aumentando a propensão dos animais ao desenvolvimento da SARA (Owens et al., 1998).

A glicose é liberada dos grânulos de amido por microrganismos específicos. Normalmente, a glicose não exerce um papel importante no rúmen, e sua concentração é baixa em condições normais. No entanto, altas concentrações podem indicar uma alta hidrólise do amido ou uma redução no consumo de glicose pelos microrganismos ruminais. Existem efeitos adversos da presença de glicose no rúmen. O primeiro deles é o aumento na população de bactérias não competitivas. Quando há glicose livre, microrganismos oportunistas como *Streptococcus bovis* podem prosperar, liberando endotoxinas ou amidas. Além disso, a presença de glicose livre aumenta a osmolaridade e promove o acúmulo de AGCC no rúmen (Owens et al., 1998).

Entre as principais características metabólicas relacionadas à SARA estão o aumento na concentração de AGCC no rúmen, baixo pH, valores abaixo de 5,5 a 6 por um período superior a 3h/d já são considerados indicativos da ocorrência de SARA (Yunhe Fu et al., 2022), além da hiperosmolaridade ruminal. As alterações nas vias metabólicas liberam metabólitos tóxicos no fluido ruminal, ocasionando danos à barreira do epitélio ruminal (Aschenbach et al., 2019).

A microbiota do rúmen converte carboidratos em AGCC. Em vacas leiteiras, a produção de AGCC pode exceder 100 mol/dia, equivalente a mais de 7 kg de ácidos puros por dia. Essa acidez não pode ser neutralizada apenas pela saliva. O processo de absorção deve ocorrer de forma eficaz para evitar acúmulo desses ácidos e conseqüentemente queda abrupta no pH. Nesses casos, o processo de absorção atua como estratégia para tamponar o conteúdo ruminal. Esse distúrbio está associado não apenas à menor eficiência alimentar e às perdas de produção devido à ineficiência da fermentação ruminal, mas também à inflamação sistêmica e a outros efeitos relacionados à SARA (Aschenbach et al., 2019).

A SARA pode desencadear diversas outras desordens, como redução na digestão de fibras, diminuição da gordura do leite, deslocamento de abomaso, laminites, entre outras complicações (Nagata et al., 2018). Portanto, é crucial equilibrar a dieta das vacas leiteiras, garantindo não apenas a produção ideal de leite, mas também a saúde metabólica e física dos animais.

## 2.2 Comportamento ingestivo

A identificação precoce de doenças pode minimizar quedas de desempenho e consequentemente perdas econômicas, tornando vantajoso detectar animais enfermos no rebanho. Embora o exame veterinário seja a abordagem mais eficaz para identificar animais doentes, a solicitação desse serviço na fazenda ocorre geralmente apenas quando os sintomas clínicos são evidentes, indicando que a doença já está em estágio avançado (Urton et. al., 2005).

Alterações na produção de leite podem servir como indicativo para monitorar a saúde dos animais; contudo, a produção de leite pode ter uma correspondência inadequada com o reconhecimento de doenças infecciosas leves ou subclínicas. Medidas adicionais para monitorar os animais e identificar possíveis desordens podem auxiliar na detecção de animais doentes (Urton et. Al., 2005).

O comportamento animal pode auxiliar a identificar animais doentes no plantel. Diante de adversidades os animais podem apresentar alterações em seu comportamento ingestivo (DeVries et al., 2009). Animais afetados por enfermidades tendem a reduzir o consumo de matéria seca (Johnson. R. W. 2002).

O comportamento alimentar das vacas leiteiras exerce um impacto direto sobre o ambiente ruminal. A atividade de ruminação, além de ser um indicador de saúde ruminal, estimula a produção de saliva e a motilidade ruminal (Maekawa et al., 2002). Evitar quedas no pH ruminal previne o acúmulo de ácido lático principal causador da acidose láctica no rúmen, mas também cria um ambiente propício para as bactérias degradadoras de fibra, podendo aumentar a síntese de proteína microbiana (DeVries e Chevaux, 2014)

Outra variável de relevância é o padrão ingestivo: o consumo rápido de grandes refeições pode resultar em uma diminuição do pH ruminal, ao passo que refeições curtas e uniformes ao longo do dia podem reduzir o risco de SARA (Johnston e DeVries, 2018). Um intervalo menor entre as refeições pode ser interpretado como uma frequência maior de alimentação, o que também pode contribuir para o controle do pH ruminal (DeVries e Chevaux, 2014).

DeVries 2009, constatou em pesquisas conduzidas com vacas em lactação submetidas ao desafio de acidose, que no dia 1 após o desafio os animais tiveram um

aumento no tempo de alimentação (310 vs 430 min,  $P < 0,001$ ), aumento da frequência de refeição (9,8 vs 12 refeições/dia,  $P = 0,008$ ) e redução no tamanho da refeição (2,5 vs 1,9 kg MS/refeição,  $P = 0,002$ ). No dia 1 pós desafio também foi observado uma queda na ruminação (533 vs 436 min/dia,  $P = 0,004$ ). De acordo com Yang (2007) o aumento da relação forragem:concentrado aumentou o tempo de ruminação por unidade de CMS (21,2 vs 25,7min/kg MS,  $P = 0,01$ ), notou-se também que a maior relação F:C fez com que os animais consumissem um número maior de refeições (8,2 vs 9,85 refeições/dia,  $P = 0,01$ ) em um tamanho menor (3,02 vs 2,34 kg MS/refeição,  $P = 0,01$ ).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### Vacas e tratamentos

O experimento foi realizado de 21 de março de 2022 a 29 de maio de 2022 em instalação do tipo *tie stall* com camas de areia, equipado com ventiladores e aspersores de alta pressão. O centro de pesquisa está localizado a 846 metros de altitude, a 21° 09' 52,41" de latitude sul e a 44° 55' 52,40" de longitude oeste. As vacas foram alimentadas individualmente 1 vez ao dia às 07:00 h e ordenhadas 3 vezes ao dia, começando às 05:00 h, 12:30 h e 19:00 h.

Vinte e duas vacas da raça Holandesa ( $36,7 \pm 6,8$  kg/d de leite,  $122 \pm 71$  dias em lactação,  $579 \pm 62$  kg de peso corporal) foram submetidas a dois protocolos de indução de acidose, sendo 21 dias de adaptação a dieta e 14 dias de coleta de dados (D 22 a 35). No dia 29, as vacas não tiveram acesso à alimentação a partir das 19:00 h (terceira ordenha do dia). No dia 30, a concentração de amido na dieta foi aumentada pela substituição de pellets de polpa cítrica por silagem de milho reidratado, e as vacas foram alimentadas ad libitum às 07:00 h. O objetivo foi induzir a alimentação rápida de uma dieta com aumento abrupto na concentração de amido (26,9 vs. 34,2% de MS, Tabela 1). No dia 32, uma segunda restrição alimentar foi realizada, removendo a disponibilidade de alimentos às 19:00 h até a próxima alimentação às 07:00 h. A dieta rica em amido foi fornecida dos dias 30 a 35 de cada período.

A TMR (Tabela 1) foi misturada uma vez ao dia em um misturador vertical estacionário de 1,2 m<sup>3</sup> (Unimix 1200, Casale) após pesar cada alimento com uma balança de precisão (MOD B-520, Líder Balanças), e as vacas foram alimentadas às 07:00 h. A alimentação foi empurrada manualmente com uma vassoura pelo menos 10 vezes ao dia. A TMR oferecida e as sobras por vaca foram medidas diariamente, e os dados durante os últimos 14 dias de cada período foram usados para a análise de CMS. A alimentação foi oferecida a cada vaca para permitir de 10 a 15% de sobra diária. Amostras de silagem de milho de planta inteira, silagem de milho reidratado e feno de alfafa foram coletadas semanalmente para determinação de MS com um forno de micro-ondas (secagem por 5 minutos e, em seguida, em incrementos de 3 minutos até obter um peso estável), e a TMR foi ajustada conforme necessário.

Alimentos individuais e sobras por vaca foram amostrados diariamente e formaram compostos semanais durante as últimas duas semanas do experimento. A composição da dieta antes e durante o desafio de amido em ingredientes foi a ingestão total de um ingrediente em MS (sobras assumidas terem a mesma composição de ingredientes da TMR oferecida em base de MS) dividida pelo CMS total. A composição em nutrientes foi a ingestão total de um nutriente (TMR oferecida - sobras por vaca) dividida pelo CMS total.

### **Comportamento ingestivo**

Durante os dias 22 a 35 de cada período de tratamento, o comportamento de ruminação foi monitorado por acelerômetro (CowMed, Santa Maria, Brasil). Foi utilizado os resultados de 07:00h, que correspondia a um acumulado das 24 horas do dia anterior. Nos dias 33 a 35, os comportamentos de alimentação e ruminação foram avaliados visualmente em intervalos de 5 minutos continuamente por 24 horas/dia, como em Pereira et al. (1999). As atividades observadas foram ruminação, alimentação, ingestão de água e ociosidade. Alimentação e ruminação foram calculadas min/d e min/kg CMS. Durante os períodos de ordenha (04:30 a 07:00h, 12:00 a 14:00 h e 18:30 a 20:00 h) não foram mensuradas a atividade mastigatória. Observações individuais de alimentação foram combinadas e separadas em refeições usando um critério de refeição (ou seja, a duração mínima de tempo entre refeições) calculado para cada vaca. Os critérios de refeição foram calculados para cada vaca utilizando métodos descritos por DeVries et al. (2003); em resumo, um pacote de software (MIX 3.1.3; MacDonald e Green, 1988) foi usado para ajustar distribuições normais à frequência de intervalos de tempo transformados para logaritmo na base 10 entre observações registradas de alimentação. Se o intervalo de tempo entre duas observações registradas de alimentação excedesse o critério de refeição determinado, isso era classificado como uma refeição diferente. O número de refeições diferentes em um dia foi denominado frequência de refeições (refeições/dia). O tempo total de refeição (min/dia) foi o tempo total de alimentação (observações de alimentação/dia  $\times$  5 minutos), mais todos os intervalos não alimentares mais curtos que o comprimento do critério de refeição de cada vaca. A duração da refeição (min/refeição) foi calculada como o tempo total diário de refeição dividido pela frequência de refeições. Finalmente, o tamanho médio da refeição foi calculado por vaca, por dia, como a razão entre o CMS diária (kg/dia) e

as refeições por dia (Coon et al., 2018). A duração e o tempo pós-alimentação da refeição diária mais longa foram calculados. A duração da primeira (inicial) refeição diária foi medida com um cronômetro. Dois avaliadores observaram o comportamento de todas as vacas, individualmente, após oferecerem alimentos às 07:00 h até a última vaca terminar sua primeira refeição.

#### **Análises estatísticas**

Os dados foram analisados com o modelo de Mixed no SAS, incluindo efeitos fixo de acidose, dia e interação acidose e dia. Os graus de liberdade foram calculados com a opção Kenward-Roger. A melhor estrutura de covariância foi definida para cada variável pelo Critério de Informação de Akaike entre autoregressivo de primeira ordem, simetria composta e não estruturado. O teste t foi utilizado para a comparação das médias para o efeito de dia e a opção *slice* do SAS foi utilizada para a interação período e dia. Os dados de ruminação mim/d e min/kg CMS foram correlacionados com os dados de ruminação obtidos visualmente. A significância foi declarada  $P \leq 0,05$  e as tendências  $0,05 < P \leq 0,10$ .

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição da dieta está detalhada na Tabela 1. A substituição integral da polpa cítrica por silagem de grãos de milho moídos e reidratados resultou no aumento da concentração de amido na dieta, de 26,9% de matéria seca (MS) antes da indução da acidose ruminal para 34,2% de MS durante a indução da acidose, mantendo o tamanho de partícula na dieta constante. A concentração dietética de forragem foi de 53,2% de MS antes da acidose e 55,0% de MS durante a acidose, com o teor de fibra detergente neutro (FDN) da forragem sendo de 19,7% e 19,9% de MS, respectivamente.

Na tabela 2 estão apresentados o CMS e a atividade mastigatória durante os protocolos de indução de acidose. O CMS, a primeira refeição, o tempo de ruminação obtido pelo acelerômetro, o tempo de ingestão visual, o tamanho da refeição e a duração da refeição mais longa foram menores durante o segundo protocolo de acidose ( $P < 0,01$ ). A ingestão e ruminação (min/ kg CMS) foram menores durante o primeiro protocolo de indução de acidose ( $P \leq 0,03$ ). Durante o segundo protocolo foi observado tendência de queda na duração da refeição ( $P = 0,08$ ) e no tempo de refeição ( $P = 0,06$ ) comparado ao primeiro protocolo de acidose. Não houve efeito de acidose para o tempo de ruminação visual (min/d), para frequência de refeição e para o momento da refeição mais longa ( $P \geq 0,21$ ).

O consumo de matéria seca está representado na Figura 1. No dia 23 (19,8 vs 21,8 kg/d;  $P < 0,05$ ) e 24 (19,7 vs 21,7 kg/d;  $P < 0,05$ ) o consumo dos animais durante o segundo protocolo de acidose foi maior comparado ao primeiro protocolo antes da restrição alimentar. Após a restrição alimentar e aumento do teor de amido na dieta, o CMS das vacas durante o segundo protocolo de acidose foi menor comparado as vacas submetidas a primeira acidose ( $P < 0,05$ ), exceto o dia 30.

Desnoyers et al. (2009) relatam que o baixo pH ruminal reduziu o CMS, devido a uma série de reações que ocorrem no rúmen, como redução da frequência e amplitude de contrações ruminais, resultando em aumento do conteúdo ruminal, aumento do ácido lático ruminal e pressão osmótica, inflamação do epitélio ruminal, desidratação metabólica, menor reserva de bicarbonato no sangue e desequilíbrio no teor ácido-base sanguíneo. No presente trabalho dados de conteúdo ruminal nesse poderiam auxiliar na compreensão dos resultados de CMS.

Estudos conduzidos por Luan et al. (2016) com vacas Jerseys e Holandesas submetidas ao desafio de amido relataram apenas uma mudança sutil no CMS, possivelmente por não terem sido observados valores de pH inferiores a 5,5, onde o cenário de acidose criado pode não ter desencadeado sintomas que afetassem no CMS.

A duração da primeira refeição está representada na figura 2. Nos dias 31 (75,2 vs 51,5 min;  $P < 0,05$ ), 33 (104,1 vs 88,8 min;  $P < 0,05$ ) e 34 (68,6 vs 49,0 min;  $P < 0,05$ ) o tempo da primeira refeição foi menor no segundo protocolo de acidose, comparado ao primeiro protocolo de indução ( $P < 0,05$ ).

O tempo de ruminação obtido pelo acelerômetro está na figura 3. Observou-se um aumento do tempo de ruminação dos animais em ambos os protocolos de acidose no dia 31 (493 min/d) comparado ao dia 30 (468 min/d). Após a segunda restrição alimentar foi observado aumento do tempo de ruminação no dia 34 (497 min/d) em comparação ao dia 33 (473 min/d). O comportamento do tempo de ruminação obtidos pelo acelerômetro foi semelhante aos dados obtidos visualmente nos dias 33 a 35.

As variáveis de ingestão e ruminação visual está representada na figura 4. No dia 34 o tempo de ingestão das vacas durante o primeiro protocolo foi superior ao segundo protocolo de indução de acidose (362,0 vs 304,0 min/d;  $P < 0,01$ ). O tempo de ruminação no dia 34 foi maior em ambos os protocolos de indução, em relação ao dia 33 e 35 que não divergiram entre si ( $P < 0,05$ ).

A ingestão e ruminação min/kg CMS visuais estão apresentados na Figura 5. A ingestão de ambos os protocolos foram significativamente menores no dia 33 (14,1 vs 16,4 min/kg CMS;  $P < 0,01$ ), comparado ao dia 34 e 35. A ruminação no dia 34, foi inferior na primeira indução de acidose em relação à segunda indução (20,3 vs 25,8 min/kg CMS;  $P = 0,03$ ). Também foi observado que a ruminação foi menor no dia 33 em ambos os protocolos de acidose ( $P < 0,05$ ).

A frequência de refeição está ilustrada na Figura 6. No dia 33, a frequência de refeição dos animais durante o segundo protocolo de acidose foi maior em comparação ao primeiro protocolo (8,0 vs 9,3 refeições/dia;  $P < 0,01$ ). Conforme observado por Pitt (1997), a baixa frequência de refeições pode estar relacionada ao acúmulo de AGCC e a maiores variações no pH ruminal.

O tamanho da refeição está na figura 7. Durante o primeiro protocolo de indução de acidose o tamanho da refeição foi maior ( $P < 0,01$ ) em relação ao

segundo protocolo. No dia 33, o tamanho da refeição foi maior em ambos protocolos de indução de acidose, comparado aos dias 34 e 35 (2,8 vs 2,4 kg MS/refeições;  $P < 0,05$ ).

A duração da refeição está representada na figura 8. No dia 33 (45,7 vs 39,3 min/refeição;  $P < 0,01$ ) e 34 (43,9 vs 37,3 min/refeição;  $P < 0,01$ ) a duração da refeição dos animais durante o primeiro protocolo de acidose foi maior comparado ao segundo protocolo.

O tempo de refeição (min/d) está na Figura 9. Observou-se tendência ( $P = 0,06$ ) de queda no tempo de refeição dos animais durante o segundo protocolo de acidose comparado ao primeiro.

A duração da refeição mais longa está representada na figura 10. Durante a primeira acidose os animais tiveram uma refeição mais longa comparado ao segundo protocolo de acidose ( $P = 0,01$ ).

O momento em que ocorreu a refeição mais longa está representado na 11. No dia 34, o momento em que ocorreu a refeição mais longa em relação a oferta da TMR (07:00 h) foi menor durante o primeiro protocolo de indução de acidose em relação ao segundo (170,0 vs 338,0 min;  $P < 0,01$ ). No dia 33, em ambos os protocolos de acidose a refeição mais longa foi a primeira refeição do dia ( $P < 0,05$ ).

A correlação entre observações visuais e as obtidas por acelerômetro min/dia e min/kg CMS estão representadas nas figuras 12 e 13 respectivamente. O tempo de ruminação min/ kg CMS obtido pelo acelerômetro apresentou melhor correlação com os dados observados visualmente ( $r^2 = 0,54$ ). A correlação entre as mensurações pelo acelerômetro e visuais na unidade min/d foi baixa ( $r^2 = 0,19$ ). A não observância da atividade mastigatória durante o período das ordenhas podem ter impactado na correlação entre as duas vias de mensuração.

## 5. Tabelas e figuras

**Tabela 1.** Composição dos ingredientes, nutrientes e tamanho de partículas das dietas experimentais antes<sup>1</sup> e durante<sup>2</sup> a indução ruminal de acidose.

	Antes	Durante
Ingredientes, % da MS		
Silagem de milho	41.8	41.9
Feno de alfafa	11.4	13.1
Caroço de algodão	9.0	8.9
Farelo de soja	13.0	12.8
Milho reidratado	12.5	21.8
Polpa cítrica	10.8	
Vitaminas e minerais	1.5	1.5
MS, % MN	39.9	39.0
Nutrientes % da MS		
Proteína bruta	16.5	16.4
FDN	35.7	33.8
FDN de forragem	19.7	19.9
Extrato etéreo	4.6	4.6
Cinzas	6.4	5.9
Amido	26.9	34.2
CNF <sup>4</sup>	36.8	38.9
CNF não amido	9.9	4.7
Distribuição de partículas,8 % MN		
> 19 mm	13.4	13.7
8 – 19 mm	44.3	43.3
< 8 mm	42.3	43.0

- <sup>1</sup> Dias 22 a 29 do período
- <sup>2</sup> Dias 30 a 35 do período
- <sup>3</sup> 33.3% calcário, 16.7% NaCl, and 50.0% minerais e vitaminas (22.7% Ca, 16.8% P, 1.85% Mg, .21.5% S, 100 ppm Co, 1.230 ppm Cu, 3.080 ppm Mn, 7.323 ppm Zn, 50.4 ppm Se, 124 ppm I, 615 KUI/kg Vit.A, 153 KUI/kg Vit.D; 3 KUI/kg Vit.E)
- <sup>4</sup> NFC = 100 – (PB + FDN + extrato etéreo + cinzas)

**Tabela 2.** Consumo de matéria seca (CMS) e atividade mastigatória de vacas leiteiras durante o período de acidose.

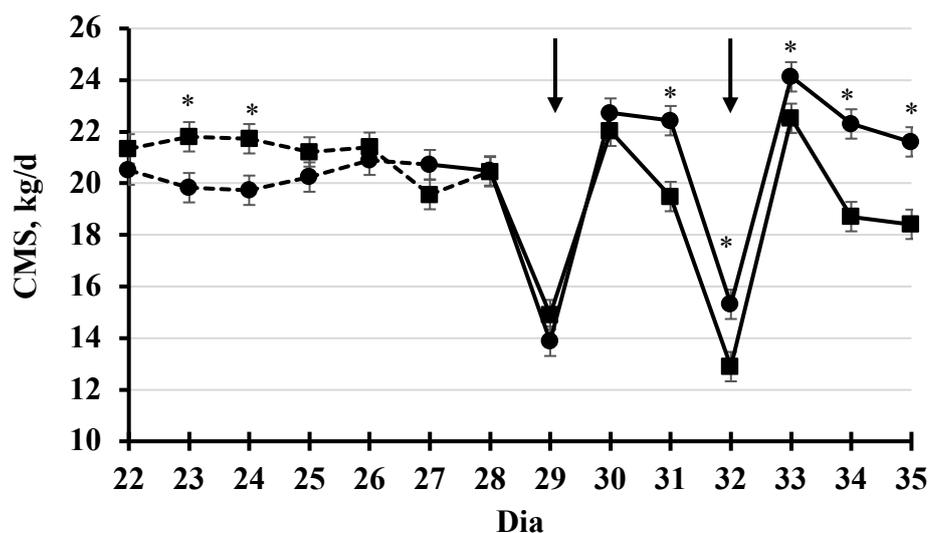
	1ª Acidose	2ª Acidose	EPM <sup>1</sup>	P Acidose	P Dia	P Acidose*Dia
CMS <sup>2</sup> , kg/d	20,3	19,7	0,15	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Primeira refeição <sup>4</sup> , min	73,4	66,6	1,46	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Ruminação <sup>3</sup> , min/d	490,9	475,7	3,61	< 0,01	< 0,01	0,39
Ingestão <sup>4</sup> , min/d	339,7	313,6	6,05	< 0,01	0,55	0,02
Ruminação <sup>4</sup> , min/d	440,8	434,8	8,27	0,61	0,01	0,08
Ingestão <sup>4</sup> , min/kg CMS	15,1	16,0	0,32	0,03	< 0,01	0,07
Ruminação <sup>4</sup> , min/kg CMS	19,7	22,5	0,52	< 0,01	< 0,01	0,02
Frequência de refeição <sup>4</sup> , refeição/d	8,5	8,9	0,18	0,21	0,06	0,03
Tamanho da refeição <sup>4</sup> , kg MS/refeição	2,6	2,2	0,05	< 0,01	< 0,01	0,32
Duração da refeição <sup>4</sup> , min/refeição	43,2	40,0	1,27	0,08	0,68	0,03
Tempo de refeição <sup>4</sup> , min/d	361,7	333,0	10,96	0,06	0,45	0,11
Duração da refeição mais longa <sup>4</sup> , min/refeição	92,5	68,0	6,99	0,01	0,18	0,57
Momento da refeição mais longa <sup>4</sup> , min	195,0	214,9	29,52	0,63	< 0,01	0,02

<sup>1</sup>EPM = Erro padrão das médias

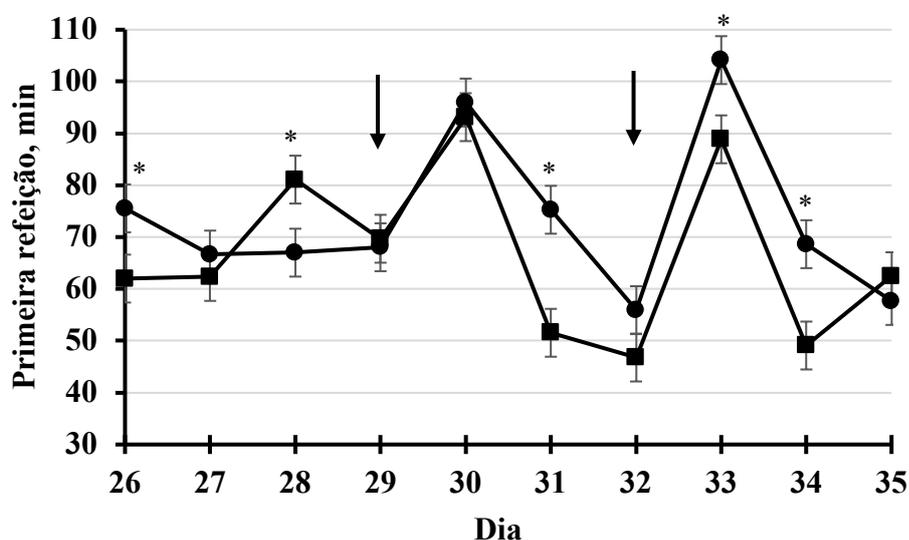
<sup>2</sup>D 22 a 35

<sup>3</sup>Dados obtidos com acelerômetro (D 22 a 35. CowMed, Santa Maria, Brasil)

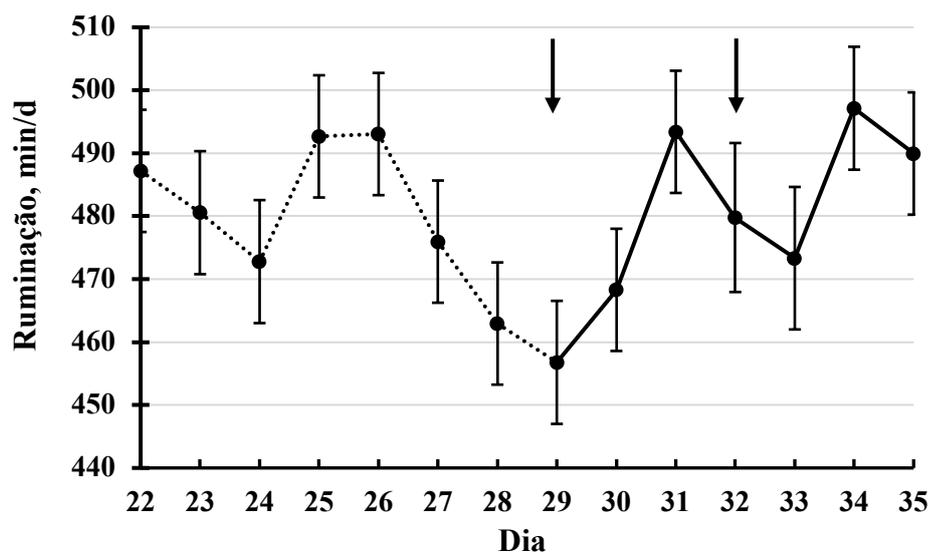
<sup>4</sup>Dados obtidos por observação visual (D 33 a 35)



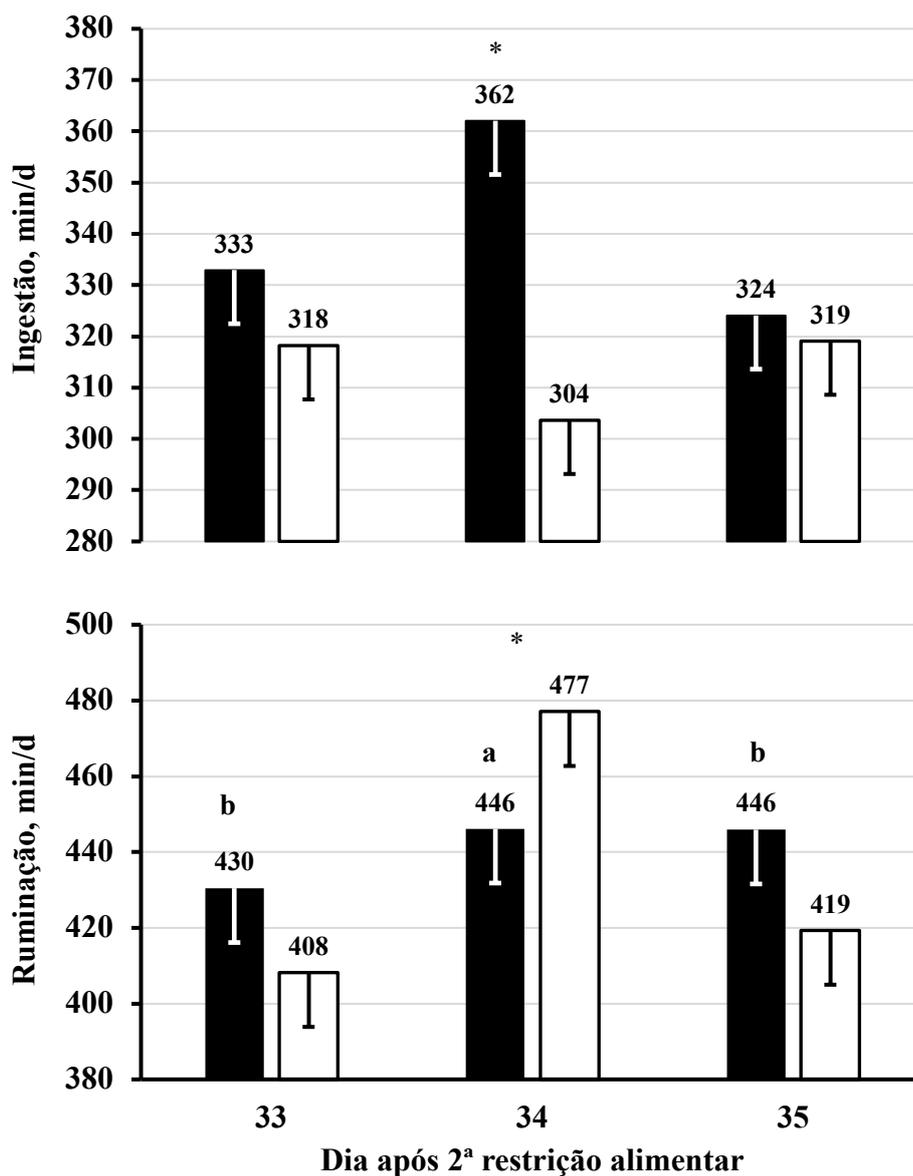
**Figura 1.** Consumo de matéria seca de vacas leiteiras durante a 1ª (●) e 2ª (■) indução de acidose. Setas indicam restrição alimentar (D 29 e 32). Linhas tracejadas indicam período antes da acidose (D 22 a 28).  $P < 0,01$  para efeito de acidose,  $P < 0,01$  para efeito de dia e  $P < 0,01$  para interação acidose e dia. Opção *slice* do SAS: \* $P < 0,05$  para efeito interação acidose e dia.



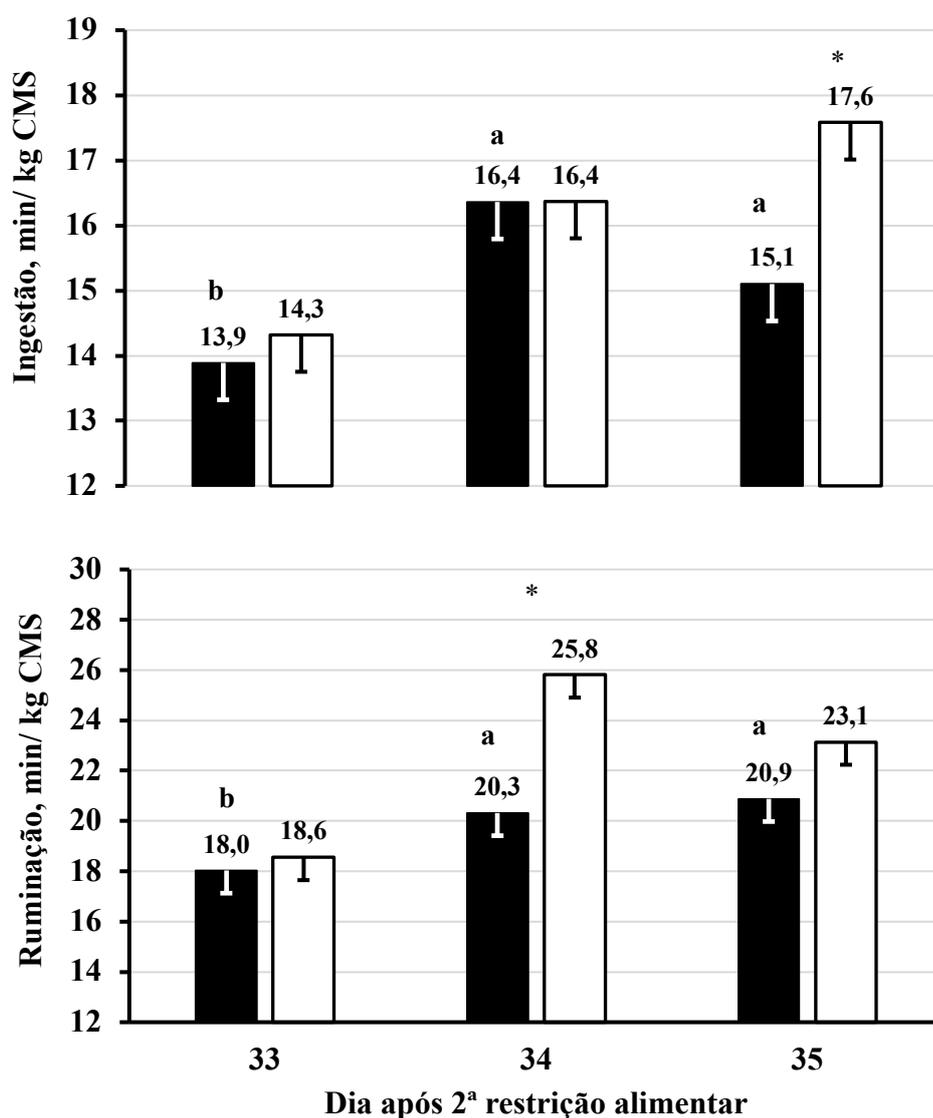
**Figura 2.** Duração da primeira refeição (min) de vacas leiteiras durante a 1ª (●) e 2ª (■) indução de acidose. Setas indicam restrição alimentar (D 29 e 32). Linhas tracejadas indicam período antes da acidose (D 22 a 28).  $P < 0,01$  para efeito de acidose,  $P < 0,01$  para efeito de dia e  $P < 0,01$  para interação acidose e dia. Opção *slice* do SAS: \* $P < 0,05$  para efeito interação acidose e dia.



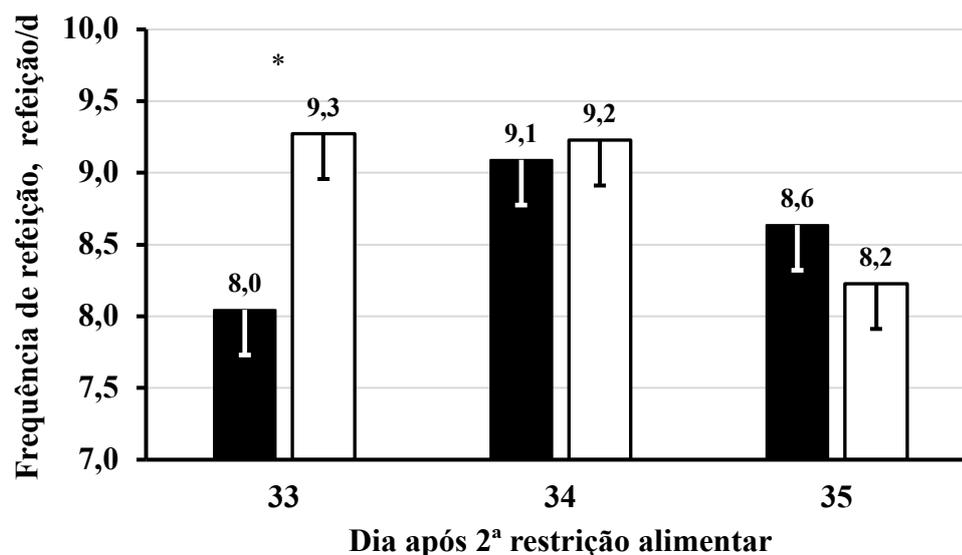
**Figura 3.** Ruminação (min/d) de vacas leiteiras durante a 1<sup>a</sup> (●) e 2<sup>a</sup> (■) indução de acidose. Setas indicam restrição alimentar (D 29 e 32). Linhas tracejadas indicam período antes da acidose (D 22 a 28).  $P < 0,01$  para efeito de acidose,  $P < 0,01$  para efeito de dia e  $P = 0,39$  para interação acidose e dia. Mensurado com acelerômetro (CowMed, Santa Maria, Brasil).



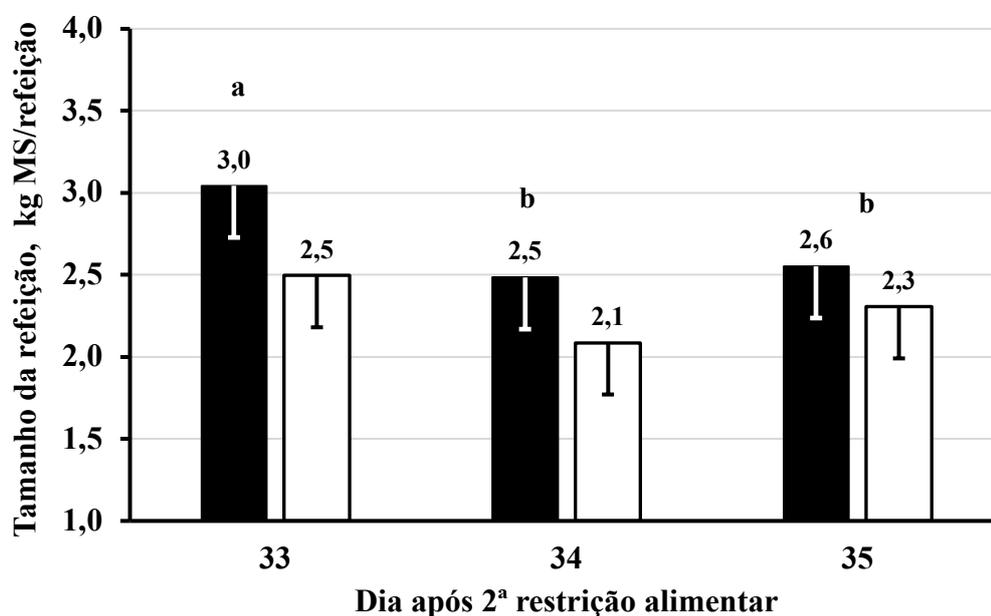
**Figura 4.** Ingestão e ruminação (min/d) de vacas leiteiras durante a 1<sup>a</sup> (■) e 2<sup>a</sup> (□) indução de acidose. Ingestão:  $P < 0,01$  para efeito de acidose,  $P = 0,55$  para efeito de dia e  $P = 0,03$  para interação acidose e dia. Opção *slice* do SAS: \* $P < 0,01$  para efeito interação acidose e dia. Ruminação:  $P = 0,61$  para efeito de acidose,  $P = 0,01$  para efeito de dia e  $P = 0,09$  para efeito interação acidose e dia. <sup>a,b</sup> Teste t ( $P < 0,05$ ) para efeito de dia. Dados observados visualmente.



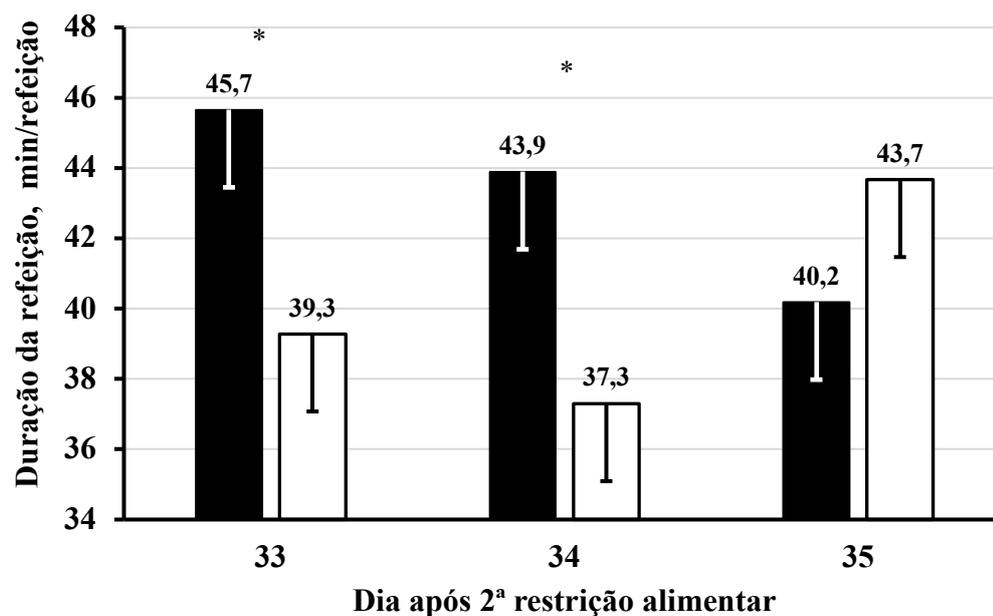
**Figura 5.** Ingestão e ruminação (min/ kg CMS) de vacas leiteiras durante a 1ª (■) e 2ª (□) indução de acidose. Ingestão:  $P = 0,04$  para efeito de acidose,  $P < 0,01$  para efeito de dia e  $P = 0,07$  para interação acidose e dia. Opção *slice* do SAS:  $*P < 0,01$  para efeito interação acidose e dia. Ruminação:  $P < 0,01$  para efeito de acidose,  $P = 0,01$  para efeito de dia e  $P = 0,03$  para interação acidose e dia. <sup>a,b</sup> Teste t ( $P < 0,05$ ) para efeito de dia. Dados observados visualmente.



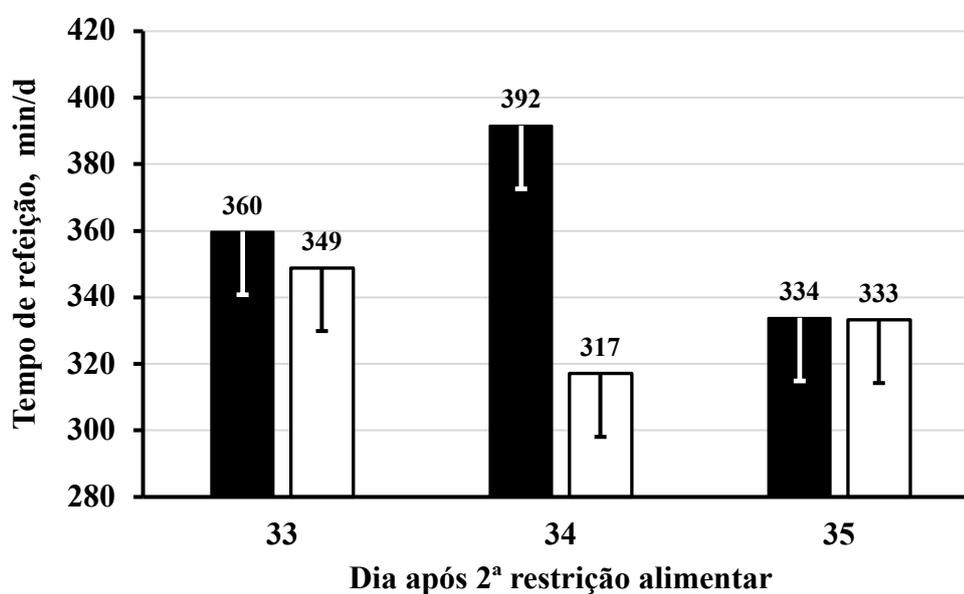
**Figura 6.** Frequência de refeição (refeições/d) de vacas leiteiras de vacas leiteiras durante a 1ª (■) e 2ª (□) indução de acidose.  $P = 0,22$  para efeito de acidose,  $P = 0,07$  para efeito de dia e  $P = 0,03$  para interação acidose e dia. Opção *slice* do SAS: \* $P < 0,01$  para interação acidose e dia. Dados observados visualmente.



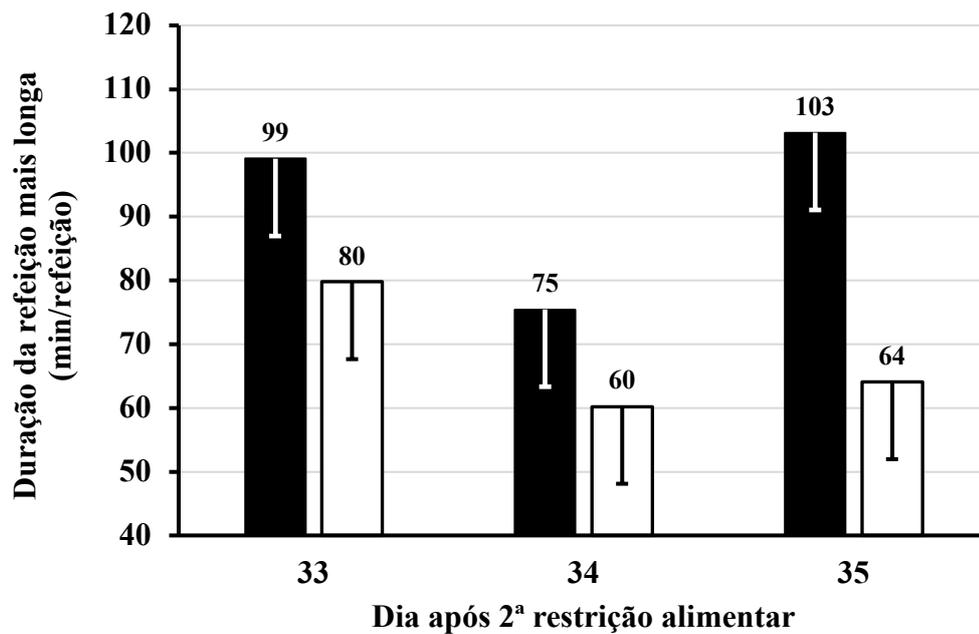
**Figura 7.** Tamanho da refeição (kg MS/refeição) de vacas leiteiras durante a 1ª (■) e 2ª (□) indução de acidose.  $P < 0,01$  para efeito de acidose,  $P < 0,01$  para efeito de dia e  $P = 0,32$  para interação acidose e dia. <sup>a,b</sup>Teste t ( $P < 0,05$ ) para efeito de dia. Dados observados visualmente.



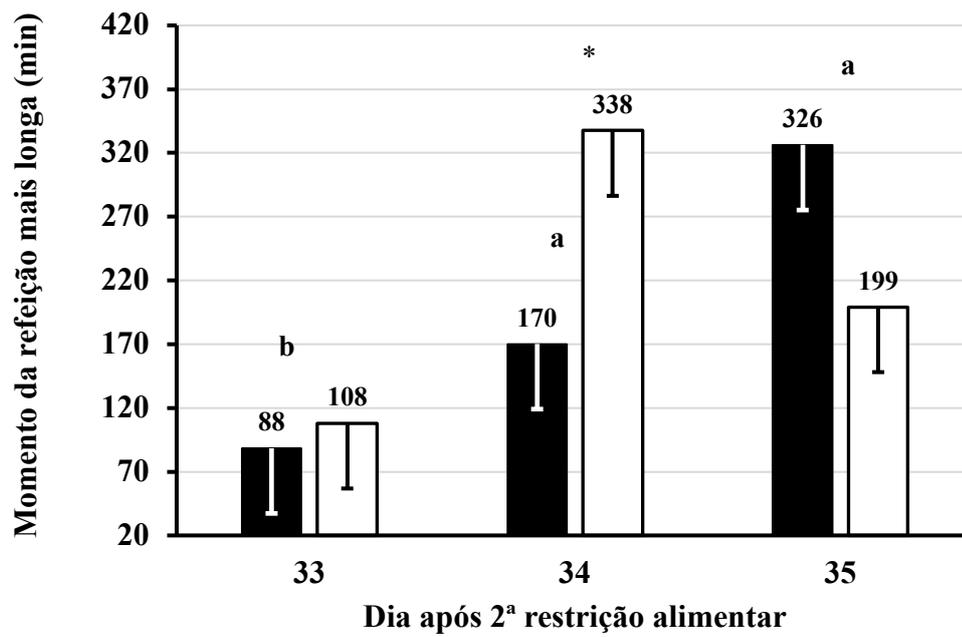
**Figura 8.** Duração da refeição (min/refeição) de vacas leiteiras durante a 1ª (■) e 2ª (□) indução de acidose.  $P = 0,08$  para efeito de acidose,  $P = 0,68$  para efeito de dia e  $P = 0,04$  para interação acidose e dia. Opção *slice* do SAS: \* $P < 0,01$  para interação acidose e dia. Dados observados visualmente.



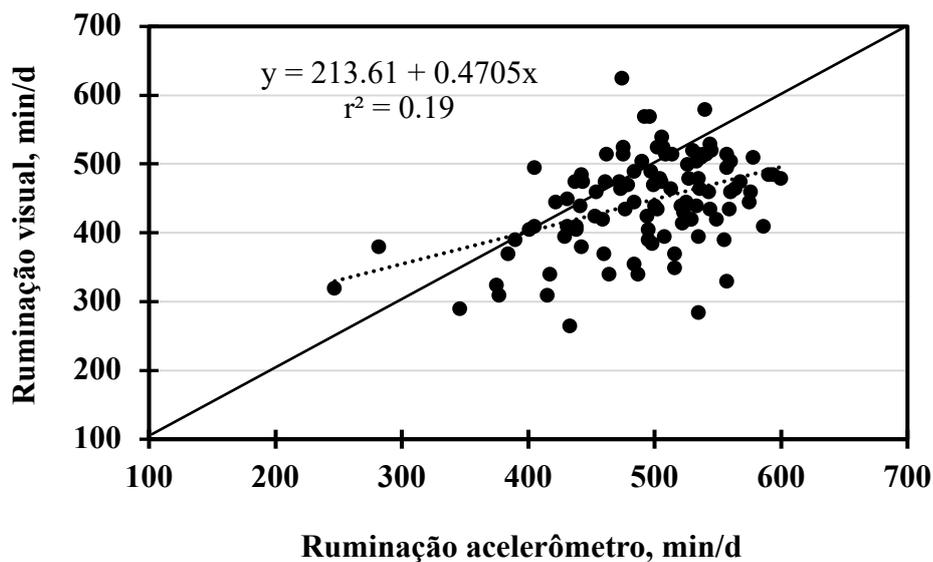
**Figura 9.** Tempo de refeição (min/d) de vacas leiteiras durante a 1ª (■) e 2ª (□) indução de acidose.  $P = 0,06$  para efeito de acidose,  $P = 0,45$  para efeito de dia e  $P = 0,11$  para interação entre acidose e dia. Dados observados visualmente.



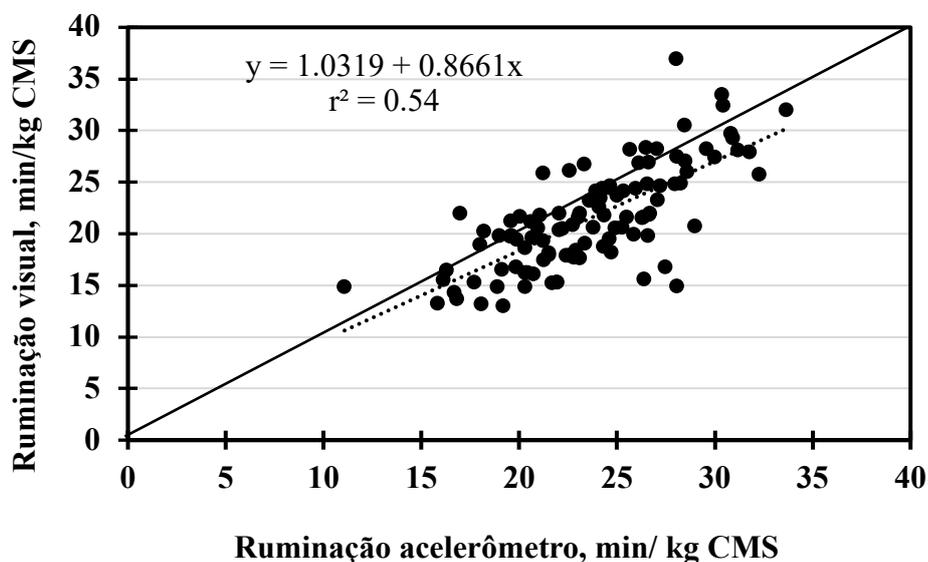
**Figura 10.** Duração da refeição mais longa (min/refeição) de vacas leiteiras durante a 1ª (■) e 2ª (□) indução de acidose.  $P = 0,01$  para efeito de acidose,  $P = 0,18$  para efeito de dia e  $P = 0,58$  para interação entre acidose e dia. Dados observados visualmente.



**Figura 11.** Momento da refeição mais longa (min) de vacas leiteiras durante a 1ª (■) e 2ª (□) indução de acidose.  $P = 0,01$  para efeito de acidose,  $P < 0,01$  para efeito de dia e  $P = 0,02$  para interação entre acidose e dia. Opção *slice* do SAS: \* $P < 0,01$ . <sup>a,b</sup> Teste t ( $P < 0,05$ ). Dados observados visualmente.



**Figura 12.** Correlação entre ruminação visual e ruminação pelo acelerômetro (CowMed, Santa Maria, Brasil) (min/d) de vacas leiteiras durante a indução de acidose. 105 Observações.



**Figura 13.** Correlação entre ruminação visual e ruminação pelo acelerômetro (CowMed, Santa Maria, Brasil) (min/kg CMS) de vacas leiteiras durante a indução de acidose. 105 abservações.

## 5. CONCLUSÃO

As vacas durante o segundo protocolo de indução de acidose apresentaram queda no consumo de matéria seca, na duração do tempo da primeira refeição do dia, no tempo de ruminação pelo acelerômetro, no tempo de ingestão visual, no tamanho da refeição e na duração da refeição mais longa. O que indica que os animais foram mais responsivos aos desafios impostos durante o segundo protocolo de indução de acidose. Houve melhor correlação do tempo de ruminação em min/ kg CMS entre os dados obtidos pelo acelerômetro e visualmente.

## REFERÊNCIAS

- DeVries T. J. et al. **Repeated ruminal acidosis challenges in lactating dairy cows at high and low risk for developing acidosis: Feeding, ruminating, and lying behavior.** *J. Dairy Sci.* 92:5067–5078.
- Yang W. Z. and Beauchemin K. A. **Altering Physically Effective Fiber Intake Through Forage Proportion and Particle Length: Chewing and Ruminal pH.** *J. Dairy Sci.* 90:2826–2838.
- Owens, F. N., D. S. Secrist, W. J. Hill, and D. R. Gill. 1998. **Acidosis in cattle: A review.** *J. Anim. Sci.* 76:275–286.
- Krause, K. M., and G. Oetzel. 2006. **Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review.** *Anim. Feed Sci. Technol.* 126:215–236.
- Rie Nagata et. al., **Effects of repeated subacute ruminal acidosis challenges on the adaptation of the rumen bacterial community in Holstein bulls.** *J. Dairy Sci.* 101:1–13.
- Nagaraja, T. G. and Titgemeyer, E. C. **Ruminal Acidosis in Beef Cattle: The Current Microbiological and Nutritional Outlook.** *J. Dairy Sci.* 90(E. Suppl.):E17–E38.
- Aschenbach, Jörg R. et al., **Symposium review: The importance of the ruminal epithelial barrier for a healthy and productive cow.** *J. Dairy Sci.* 102:1–17.
- Johnson. R.W. **The concept of sickness behavior: a brief chronological account of four key discoveries.** *Veterinary Immunology and Immunopathology* 87 (2002) 443–450.
- DeVries. T. J. \*<sup>1</sup> and Chevaux. E. **Modification of the feeding behavior of dairy cows through live yeast supplementation.** *J. Dairy Sci.* 97:6499–6510.
- Johnston. C. and DeVries. T. J. **Short communication: Associations of feeding behavior and milk production in dairy cows.** *J. Dairy Sci.* 101:3367–3373.
- Yang. W. Z. and Beauchemin. K. A. **Altering Physically Effective Fiber Intake Through Forage Proportion and Particle Length: Chewing and Ruminal pH.** *J. Dairy Sci.* 90:2826–2838.
- Beauchemin. K. A. **Invited review: Current perspectives on eating and rumination activity in dairy cows.** *J. Dairy Sci.* 101:4762–4784.
- PITT R. E. and PELL A. N. **Modeling Ruminal pH Fluctuations: Interactions Between Meal Frequency and Digestion Rate.** *J. Dairy Sci.*P2429-2441.
- Desnoyers, M., S. Giger-Reverdin, G. Bertin, C. Duvaux-Ponter, and D. Sauvant. 2009. **Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants.** *J. Dairy Sci.* 92:1620–1632.

Luan, S. K. Cowles, M. R. Murphy, and F. C. Cardoso. 2016. **Effect of a grain challenge on ruminal, urine, and fecal pH, apparent total-tract starch digestibility, and milk composition of Holstein and Jersey cows.** *J. Dairy Sci.* 99:2190–2200.

Stauder A., E. Humer, V. Neubauer, N. Reisinger, A. Kaltenecker, and Q. Zebeli. 2020. **Distinct responses in feed sorting, chewing behavior, and ruminal acidosis risk between primiparous and multiparous Simmental cows fed diets differing in forage and starch levels.** *J. Dairy Sci.* 103:8467–8481.

Fu, Y.; He, Y.; Xiang, K.; Zhao, C.; He, Z.; Qiu, M.; Hu, X.; Zhang, N. **The Role of Rumen Microbiota and Its Metabolites in Subacute Ruminal Acidosis (SARA)-Induced Inflammatory Diseases of Ruminants.** *Microorganisms* 2022, 10, 1495. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10081495>.