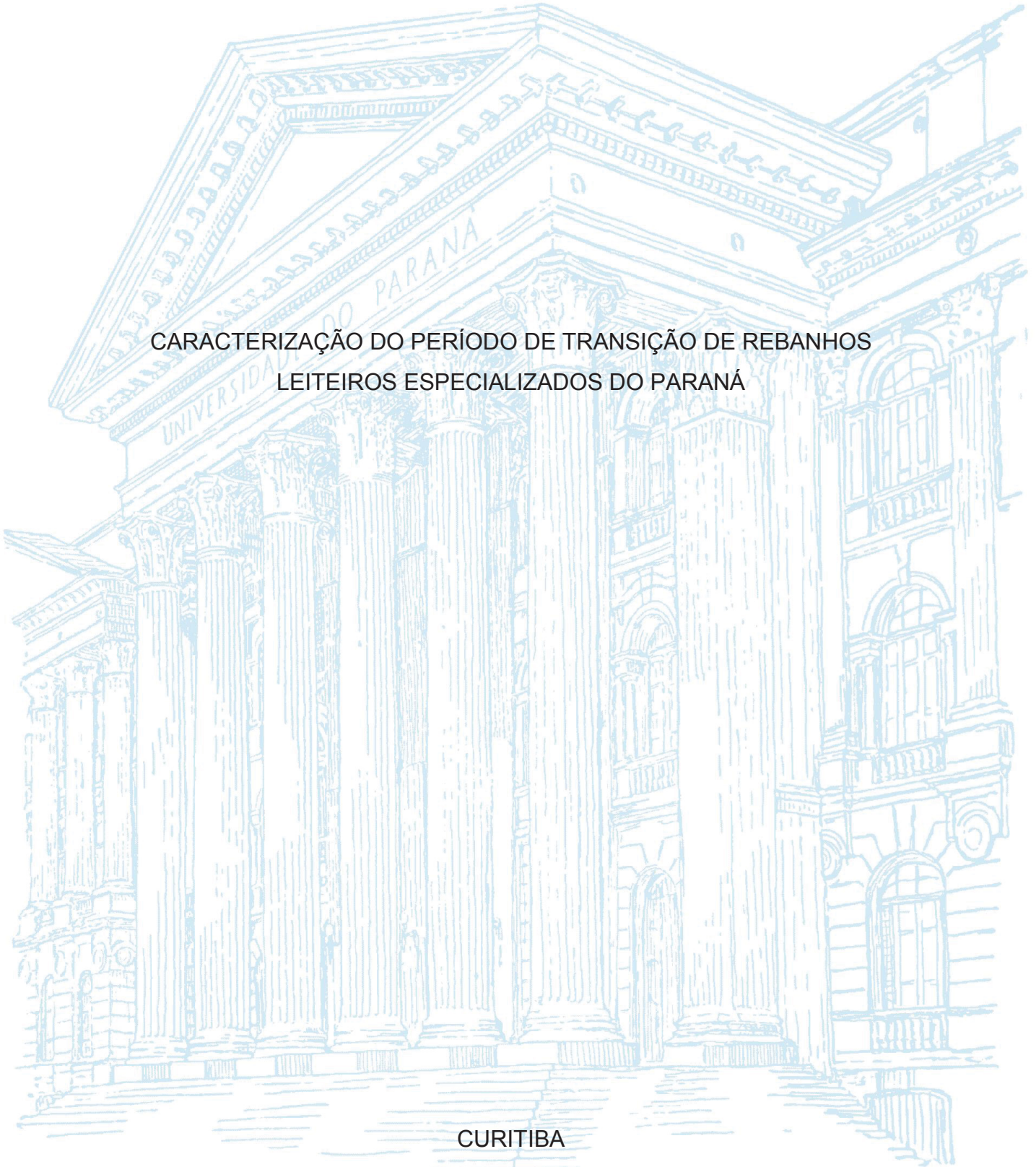


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ELOIZE JAQUELINE ASKEL

CARACTERIZAÇÃO DO PERÍODO DE TRANSIÇÃO DE REBANHOS  
LEITEIROS ESPECIALIZADOS DO PARANÁ



CURITIBA

2020

ELOIZE JAQUELINE ASKEL

CARACTERIZAÇÃO DO PERÍODO DE TRANSIÇÃO DE REBANHOS  
LEITEIROS ESPECIALIZADOS DO PARANÁ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração Nutrição e Produção Animal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo de Almeida

CURITIBA

2020

Askel, Eloize Jaqueline

Caracterização do período de transição de rebanhos leiteiros especializados do Paraná. / Eloize Jaqueline Askel. - Curitiba, 2020.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

Orientador: Rodrigo de Almeida.

1. Bovinos de leite - Metabolismo. 2. Leite - Produção - Paraná. 3. Saúde Animal. I. Almeida, Rodrigo de. II. Título. III. Universidade Federal do Paraná.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ZOOTECNIA -  
40001016082P0

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ZOOTECNIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de ELOIZE JAQUELINE ASKEL intitulada: Caracterização do período de transição de rebanhos leiteiros especializados do Paraná, sob orientação do Prof. Dr. RODRIGO DE ALMEIDA, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 28 de Fevereiro de 2020.

RODRIGO DE ALMEIDA

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

ADRIANA DE SOUZA MARTINS

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA)

MAITY ZOPOLLATTO

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

*À Deus, por prover em todos os momentos,  
À minha mãe, na morada divina, por ter me dado a vida e me guiado na  
sabedoria,*

*À minha família.*

*Dedico*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por simplesmente tudo, pelo dom da vida, e por orquestrar os meus caminhos, por estar presente em todos os momentos, dando discernimento nos momentos de dúvidas e incertezas. Pois mesmo quando as coisas deram errado, ainda ocorreram da melhor forma que poderiam acontecer.

Agradeço a minha família, pois mesmo longe, sempre estiveram perto, e sempre foram minha base. Sempre fizeram tudo o que estava ao alcance. E de nada me adiantaria outras coisas, sem a base que é a família. Ao meu pai Lourenço, pelo grande exemplo que é para nós, e por tudo que faz por mim e pelo meu irmão, e agradeço ao meu irmão Eduardo, pelas muitas trocas de ideias e apoio nas decisões, fica aqui o meu sincero agradecimento. Agradeço ao Lucas, por estar ao lado, nesta reta final do mestrado, perante todos os desafios.

Agradeço imensamente ao professor Rodrigo de Almeida, pelas oportunidades concedidas, desde o ingresso no mestrado sob sua orientação e que permitiram a realização do experimento. Por todas as orientações, suporte, confiança e ensinamentos durante o mestrado.

À Capes, pela concessão da bolsa de estudo.

Agradeço as cooperativas Capal, Frísia e Castrolanda que foram parceiras em organizar as visitas às propriedades, ceder tempo e espaço ao nosso trabalho. Agradeço nominalmente ao Rodrigo Navarro, Leopoldo, Guilherme e Jorge, e a todos os técnicos que sempre foram muito prestativos, aos produtores e funcionários que nos receberam e nos ajudaram!

Agradeço as colegas do Grupo do Leite Milaine e Aline que me deram uma força no trabalho braçal durante meu experimento. E conjuntamente com estas também a Dani e Isabela, pelos vários cafés coletivos. Agradeço a Daiana e sua família, que me acolheram em sua casa durante o período de experimento! E ao colega Jean Carlos pela orientação quanto às análises estatísticas.

Agradeço a Cleusa do Laboratório de Nutrição Animal da UFPR, pela realização das análises bromatológicas, e ao Olair do Laboratório de Patologia



Clínica Veterinária da UFPR, pela realização das análises de metabólitos sanguíneos.

Agradeço ao Núcleo de Produção Animal (NUPRAN-UNICENTRO), e especialmente ao professor Mikael Neumann, pois o tenho como um grande exemplo de profissional, e aos colegas que convivi na época de graduação, grandes amigos, e as experiências vivenciadas, um alicerce para a boa execução do mestrado e para a vida profissional. E ao meu colega e amigo Guilherme Leão, que me deu muito apoio e orientações nas minhas decisões profissionais.

E realmente o sentimento que fica é de muita gratidão, pois facilmente perco a conta de quantas pessoas me ajudaram durante este período de mestrado, desde técnico, produtor, estagiário, gerente, funcionário, colegas... Todos de uma forma ou de outra, contribuíram com o trabalho, e foram essenciais para que ele acontecesse. Nada é feito sozinho e aqui fica registrado o meu muito obrigada a todos que estiveram presentes em mais esta etapa!

*“O sucesso é a soma de pequenos  
esforços, repetidos dia sim, e no outro dia  
também.”*

*Robert Collier*



## RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o perfil metabólico, o índice de saúde metabólica (ISM), escore de condição corporal (ECC),  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) e ácidos graxos não-esterificados (AGNE) e a correlação dos mesmos com parâmetros produtivos de vacas leiteiras em período de transição oriundas de 30 rebanhos leiteiros da região dos Campos Gerais do Paraná. Outro objetivo deste trabalho foi caracterizar o perfil dos rebanhos, as tecnologias, manejo geral e alimentar e infraestrutura utilizados nessas fazendas em relação ao período de transição. Os rebanhos foram visitados apenas uma vez e variaram de 99 a 1.247 vacas em lactação, com produção média por fazenda variando de 25,0 a 42,1 L/vaca/dia. Os teores médios de gordura e proteína no controle leiteiro mensal foram de  $3,78\% \pm 0,47$  e  $3,39\% \pm 0,18$ , respectivamente. Verificou-se que 93,3% das fazendas utilizavam lote específico para vacas em pré-parto com fornecimento de dieta aniônica e 76,7% das fazendas possuíam lote pós-parto. No dia da visita, as vacas no periparto tiveram seu sangue coletado. Foram avaliadas 311 vacas no pré-parto (-21 a -1 dias em relação ao parto) e 431 vacas no pós-parto (0 a +21 dias em relação ao parto). Foram mensurados os metabólitos aspartato aminotransferase (AST), gama glutamiltransferase (GGT), bilirrubina, colesterol, glicose, albumina, cálcio, AGNE e BHB, e a partir dos metabólitos albumina, bilirrubina e colesterol foi calculado o ISM nas vacas pós-parto. As vacas foram categorizadas por níveis de BHB, ECC e ordem de lactação no pré-parto e por ordem de lactação, níveis de BHB, AGNE, ISM e ECC no pós-parto. Observou-se que a glicose teve correlação negativa com ordem de lactação, tanto em vacas avaliadas no pré-parto quanto no pós-parto. Maiores concentrações de BHB no pré-parto ( $\geq 0.6$  mmol/L) resultaram em menor produção de leite no primeiro controle leiteiro no pós-parto (realizado de 5 a 45 dias em leite - DEL). Escore de condição corporal  $\geq 3,5$  implicou em maior relação gordura:proteína no primeiro controle leiteiro após o parto. Para as vacas avaliadas no pós-parto, o DEL foi correlacionado positivamente com cálcio e colesterol. Vacas com baixo ECC, alto AGNE ou alto BHB apresentaram os valores mais negativos de ISM. Os metabólitos bilirrubina, AST, BHB e AGNE foram todos correlacionados entre si, e positivamente com a relação gordura:proteína. Vacas com ECC  $> 3,5$  ou BHB  $\geq 1,2$  mmol/L apresentaram maior porcentagem de gordura no leite no primeiro controle, e as vacas com BHB  $\geq 1,2$  mmol/L, ECC  $> 3,5$ , AGNE  $\geq 0,72$  mmol/L e ISM baixo (média de -2,832) tiveram maior relação gordura:proteína. Com relação ao ISM, vacas com alto índice (média de 2,17) produziram mais leite e com maior teor de proteína no primeiro controle leiteiro após o parto.

Palavras-chave: Escore de Condição Corporal. Índice de Saúde Metabólica. Perfil Metabólico. Periparto.

## ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate the metabolic profile, the metabolic health index (MHI), body condition score (BCS),  $\beta$ -hydroxybutyrate (BHB) and non-esterified fatty acids (NEFA) and their correlation with productive parameters in the postpartum of dairy cows in transition period from 26 dairy herds in the Campos Gerais of Paraná. Other objective was to characterize the profile of the farms, the technologies, general and feedstuffs management and infrastructure used in these farms in relation to transition cows. The herds were visited only once, and their size ranged from 99 to 1,247 lactating cows, and average production per farm ranging from 25.0 to 42.1 L cow day<sup>-1</sup>. The levels of fat and protein in the monthly dairy control were 3.78%  $\pm$  0.47 and 3.39%  $\pm$  0.18, respectively. It was found that 93.3% of the farms had a specific lot for cows in prepartum with anionic diet supply, and 76.7% of the farms had a post-calving lot. On the day of the visit, the cows in the peripartum had their blood collected. Three hundred and eleven dairy cows were evaluated in the prepartum (-21 to -1 days in relation to calving) and 431 dairy cows were evaluated in the postpartum (0 to 21 days in relation to calving). The serum metabolites aspartate aminotransferase (AST), gamma-glutamyl transferase (GGT), bilirubin, cholesterol, glucose, albumin, calcium, NEFA and BHB were measured. Through the metabolites albumin, bilirubin and cholesterol was calculated the MHI in the postpartum cows. For statistical analysis the prepartum cows were categorized by lactation order, BHB and BCS levels. And cows postpartum by lactation order, BHB, NEFA, MHI and BCS levels. We observed that glucose had a negative correlation with lactation order, in both prepartum and postpartum cows. Higher BHB levels in the prepartum period ( $\geq$  0.6 mmol/L) reflected in lower milk production in the first test-day after calving (5 to 45 days in milk - DIM). Body condition score  $\geq$  3.5 implied higher fat:protein ratio (FPR) in the first test-day. For cows evaluated in the postpartum period, the DIM was correlated positively with calcium and cholesterol. In addition, cows with low BCS, high NEFA or high BHB had the most negative MHI values. The metabolites bilirubin, AST, BHB and NEFA were all correlated with each other, and positively with FPR. Cows with BCS  $>$  3.5 or BHB  $\geq$  1.2 mmol/L showed higher milk fat content in the first test-day, and cows with BHB  $\geq$  1.2 mmol/L, BCS  $>$  3.5, NEFA  $\geq$  0.72 mmol/L and low MHI (mean: -2.832) had a higher FPR. In relation to MHI, cows with high MHI (mean: 2.17) produced more milk and higher milk protein content in the first test-day.

Keywords: Body Condition Score. Metabolite Health Index. Peripartum. Serum Metabolic Profile.

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 – Energia líquida (Mcal/dia) requerida (-----), consumida ( $\Delta\Delta\Delta$ ) e balanço energético ( $\bullet\bullet\bullet$ ) de vacas leiteiras. Adaptado de GRUMMER (2008). ..... 21
- FIGURA 2 – Formação de corpos cetônicos (acetoacetato, acetona e  $\beta$ -hidroxibutirato) a partir de 2 acetil-CoA. Fonte NELSON e COX (2011). ..... 23
- FIGURA 3 – Representação da relação entre o metabolismo de lipídios no tecido adiposo, fígado e glândula mamária. Adaptado de DRACKLEY (1999). ..... 24
- FIGURA 4 – Frequência de uso de aspersão e ventilação nos lotes de vacas secas, vacas pré-parto e vacas em pós-parto de 30 rebanhos leiteiros da região dos Campos Gerais do Paraná. .... 76
- FIGURA 5 – Frequência do uso de dieta total misturada no período seco e no período de transição (pré-parto e pós-parto) e frequência do número de tratamentos diários, em 30 rebanhos leiteiros da região dos Campos Gerais do Paraná. .... 76
- FIGURA 6 – Frequência de uso de aditivos (levedura, monensina e sal aniônico) e metionina, colina e gordura protegida para vacas em pré-parto, pós-parto e lote de alta produção, de 30 rebanhos leiteiros da região dos Campos Gerais do Paraná. .... 77

## LISTA DE TABELAS

TABLE 1 – Pearson’s correlation between metabolic variables measured in prepartum cows from dairy farms in the Campos Gerais, Paraná. .....	56
TABLE 2 – Lactation number, BCS and BHB in prepartum cows, and the effects on postpartum productive parameters.....	57
TABLE 3 – Pearson’s correlation between metabolic variables measured in postpartum cows from dairy farms in the Campos Gerais, Paraná. .....	58
TABLE 4 - Pearson’s correlation between metabolic variables measured in postpartum (0 to 21 DIM) cows and productive parameters from dairy farms in the Campos Gerais, Paraná. ....	59
TABLE 5 – Effects of lactation number, BCS, NEFA, BHB and MHI levels measured in the postpartum (0 to 21 DIM), on metabolic parameters of dairy cows. ....	60
TABLE 6 – Effects of lactation number, BCS, NEFA, BHB and MHI levels measured in the postpartum (0 to 21 DIM), on productive parameters of dairy cows. ....	61
TABELA 7 - Características produtivas e do número de animais no rebanho de 30 fazendas leiteiras da região dos Campos Gerais do Paraná. ....	67
TABELA 8 – Frequência de respostas para aspectos de manejo e instalações de 30 rebanhos leiteiros com $\geq 100$ vacas em lactação, na região dos Campos Gerais do Paraná.....	69
TABELA 9 – Frequência de respostas para aspectos de manejo e instalações de vacas em pré-parto de 30 rebanhos leiteiros da região dos Campos Gerais do Paraná. ....	71
TABELA 10 – Frequência de respostas para aspectos de manejo e instalações de vacas em pós-parto de 30 fazendas leiteiras da região dos Campos Gerais do Paraná.....	72
TABELA 11 – Correlações de Pearson entre 13 variáveis de rebanho de 30 fazendas leiteiras da região dos Campos Gerais do Paraná. ....	75

TABELA 12 – Análise bromatológica (média ± DP) de dietas totalmente misturadas (DTM) de lotes pré-parto e pós-parto de rebanhos leiteiros da região dos Campos Gerais do Paraná.....	78
TABELA 13 – Distribuição do tamanho de partícula (média ± DP) de amostras de dietas totalmente misturadas (DTM) avaliadas pelo conjunto de peneiras Penn State Particle Separator, durante as visitas a rebanhos leiteiros da região dos Campos Gerais do Paraná.....	79

## LISTA DE SIGLAS

AGNE	Ácidos Graxos Não Esterificados
APCBRH	Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa
AST	Aspartato Aminotransferase
ATP	Adenosina Trifosfato
BEN	Balanço Energético Negativo
BHB	Beta-Hidroxibutirato
bST	Somatotropina Bovina
CBT	Contagem Bacteriana Total
CCS	Contagem de Células Somáticas
CO <sub>2</sub>	Gás Carbônico
CPT-1	Carnitina Palmitoiltransferase I
DEL	Dias em Leite
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DP	Desvio Padrão
ECC	Escore de Condição Corporal
EE	Extrato Etéreo
FDA	Fibra em Detergente Ácido
FDN	Fibra em Detergente Neutro
GGT	Gama Glutamiltransferase
HMG-CoA	$\beta$ -hidroxi- $\beta$ -metilglutaril-CoA
IMS	Ingestão de Matéria Seca
LSH	Lipase Sensível a Hormônio
MM	Matéria Mineral
MS	Matéria Seca
NUL	Nitrogênio Ureico do Leite
PB	Proteína Bruta
PFA –	Proteína de Fase Aguda Negativa
PFA +	Proteína de Fase Aguda Positiva
DTM	Dieta Total Misturada
TG	Triglicerídeos

## LIST OF ABBREVIATIONS

ADF	Acid Detergent Fiber
APP-	Negative Acute Phase Proteins
APP+	Positive Acute Phase Proteins
BCS	Body Condition Score
CNCPS	Cornell Net Carbohydrate and Protein System
CP	Crude Protein
DIM	Days in Milk
DM	Dry Matter
FAO	Food Agriculture Organization
MHI	Metabolite Health Index
NDF	Neutral Detergent Fiber
NEFA	Non-Esterified Fatty Acids
NRC	Nutrient Requirements of Dairy Cattle
peNDF	Physically Effective Neutral Detergent Fiber
PMR	Partial Mixed Ration
TMR	Total Mixed Ration
VLDL	Very Low Density Lipoprotein



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	18
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	21
2.1 METABOLISMO ENERGÉTICO .....	21
2.2 NÍVEIS ENERGÉTICOS DAS DIETAS .....	25
2.3 AVALIAÇÃO DO PERFIL METABÓLICO.....	27
2.4 MONITORAMENTO DO ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL .....	31
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	33
<b>3 CAPÍTULO I: METABOLISMO ENERGÉTICO DURANTE O PERÍODO DE TRANSIÇÃO INFLUENCIA A SAÚDE HEPÁTICA E IMPACTA PARÂMETROS PRODUTIVOS DE VACAS LEITEIRAS</b> .....	39
3.1 RESUMO.....	39
3.2 ABSTRACT .....	40
3.3 INTRODUCTION.....	41
3.4 MATERIAL AND METHODS .....	43
3.4.1 Population Study .....	43
3.4.2 Data Collection and Samples .....	44
3.4.3 Laboratory Analysis .....	45
3.4.5 Statistical Analysis.....	46
3.5 RESULTS.....	47
3.5.1 Blood Metabolites in Prepartum .....	47
3.5.2 Blood Metabolites in Postpartum.....	47
3.6 DISCUSSION .....	48
3.7 CONCLUSION .....	52
<b>REFERENCES</b> .....	53
<b>4 CAPÍTULO II – ARTIGO: ÍNDICES PRODUTIVOS E ESTRATÉGIAS DE MANEJO, ALIMENTARES E INSTALAÇÕES PARA VACAS EM PERÍODO DE TRANSIÇÃO DE REBANHOS LEITEIROS ESPECIALIZADOS DA REGIÃO DOS CAMPOS GERAIS, PARANÁ</b> .....	62
4.1 RESUMO.....	62
4.2 ABSTRACT .....	63
4.3 INTRODUÇÃO .....	63
4.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	65

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
4.6 CONCLUSÕES .....	80
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>80</b>
<b>REFERÊNCIAS GERAIS .....</b>	<b>84</b>
<b>ANEXO 1 – PROTOCOLO DE APROVAÇÃO NA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DA UFPR.....</b>	<b>94</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O leite bovino comercializado mundialmente alcançou a marca de 843 milhões de toneladas em 2018, segundo a *Food Agriculture Organization* (FAO, 2019). O Brasil produziu 33,8 bilhões de litros em 2018, e o Paraná ocupou a segunda posição, com 4,4 bilhões de litros, o que representa 13% da produção brasileira.

A média de produção leiteira anual por vaca no estado do Paraná foi 3.028 litros, correspondendo a média de 9,93 L/d, baseando-se nos dados da Embrapa (2018), de 4,826 bilhões de litros por 1.594 mil vacas ordenhadas. No quesito produtividade, destaca-se a região centro-oriental do Paraná, que reúne os municípios de Ponta Grossa, Castro, Carambeí, Arapoti e Palmeira, onde a produtividade animal alcança 6.356 a 7.478 litros/vaca/ano.

O impacto dessa região no mercado lácteo é representada pelo laticínio UNIUM, que é a intercooperação de lácteos das três cooperativas dos Campos Gerais (Frísia, Castrolanda e Capal). A UNIUM foi a terceira maior empresa de lácteos brasileira em 2018, recebendo um total de 1,142 bilhões de litros de leite, totalizando 1.336 produtores, com média diária de 1.498 litros de leite por produtor (EMBRAPA, 2019).

No entanto, a intensificação dos sistemas de produção e a maior produtividade de leite são associadas com maiores incidências de distúrbios metabólicos e clínicos nos animais, que por outro lado, podem diminuir a produtividade e desempenho reprodutivo no início da lactação (HAYIRLI et al., 2002). As mudanças drásticas que ocorrem num curto período de tempo, três semanas anteriores e posteriores ao parto, no *status* imunológico, nutricional, metabólico e hormonal, favorecem a maior incidência de doenças infecciosas e distúrbios metabólicos (DRACKLEY, 1999).

No período pós-parto, a ingestão de alimentos é limitada, e ocorre um *déficit* entre a exigência nutricional e o aporte de nutrientes via alimentação, acarretando no balanço energético negativo (BEN), na fase inicial da lactação (NRC, 2001). Vacas periparturientes têm aumento brusco na demanda energética e de proteína metabolizável, resultado do aumento da demanda metabólica da glândula mamária, concomitante com diminuição na ingestão de matéria seca (IMS). Assim, a mobilização de tecido adiposo corporal acaba

sendo inevitável (OSPINA et al., 2010a) e o acúmulo de gordura hepática ocorre com maior ou menor intensidade em vacas recém-paridas (WEBER et al., 2013). Além disso, esta fase é caracterizada por um estado de resistência à insulina que acentua o processo de lipólise, com formação de ácidos graxos não esterificados (AGNE).

Além do aumento da demanda energética e de proteína metabolizável no periparto (BELL, 1995), a demanda de cálcio excede as concentrações séricas disponíveis, culminando em quedas súbitas na concentração do mineral, com quadros de hipocalcemia clínica ou subclínica (GOFF et al., 2005).

Dessa forma, estratégias nutricionais e de manejo no período seco e no período de transição podem ser determinantes para o sucesso da vaca leiteira nesta fase, propiciando maior rentabilidade durante a lactação, e contribuindo para a menor incidência de desordens metabólicas e infecciosas no período de transição. Tais problemas repercutem em custos associados a tratamentos, perdas de produção e descarte de vacas (OVERTON e WALDRON, 2014). De fato, dados epidemiológicos mostram que boa parte das vacas que deixam o rebanho estão na fase inicial da lactação, com até 60 dias em leite (DEL) (GODDEN et al., 2003).

A dieta e o manejo nutricional nesta fase têm importância, pois dietas mais ou menos energéticas repercutem na condição corporal das vacas e, conseqüentemente, na sua capacidade de adaptação ao BEN no pós-parto. Da mesma forma, condições de ambiente (presença de ventilação artificial e/ou aspersão), aspectos de manejo alimentar, como frequência e oferta da dieta total misturada (DTM) e de manejos gerais, como frequência da mudança de lotes das vacas no período seco, tempo de permanência das vacas no lote pré-parto e separação de lotes de novilhas e vacas, têm alguma implicância no sucesso ou insucesso do período de transição nas fazendas leiteiras, sendo que, ações assertivas nestes pontos refletem na produtividade e saúde da vaca na lactação.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi quantificar as concentrações séricas de metabólitos sanguíneos nos períodos pré-parto e pós-parto de vacas leiteiras, sob dietas e manejos distintos, para avaliar a funcionalidade hepática pela relação dos metabólitos albumina, bilirrubina e colesterol. Além disso, determinou-se as relações entre perfil metabólico e escore de condição corporal com índices de produção, de produção e composição do leite. Por fim, objetivou-

se descrever o perfil das dietas, uso de aditivos, manejos e instalações utilizadas no período de transição e alguns índices produtivos de rebanhos leiteiros especializados.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

## 2.1 METABOLISMO ENERGÉTICO

O BEN, decorrente da diferença entre a energia consumida e a necessária para manutenção, crescimento e lactação, é característico do pós-parto de vacas leiteiras (GRUMMER, 2008). Vacas recém-paridas têm altas exigências de energia líquida para lactação (EL<sub>L</sub>) e restrito consumo de MS. Exemplificando, uma vaca com 10 DEL, 625 kg de peso corporal, produção de 35 kg/d de leite, com 3,5% de gordura e 3,2% de proteína tem exigência de 20,6 Mcal/d para a produção de leite e 11 Mcal/d para exigências de manutenção, totalizando 31,6 Mcal/d (NRC, 2001). Tipicamente, segundo estimativas do NRC (2001), a IMS nesta fase é baixa, restringindo-se a algo em torno de 15,1 kg/d de MS. Sendo assim, a energia líquida por kg de MS deveria ser de 2,09 Mcal/kg, o que dificilmente é alcançado em dietas de vacas leiteiras. Conseqüentemente, as vacas têm um *déficit* no consumo de energia no início da lactação, e o BEN (Figura 1).

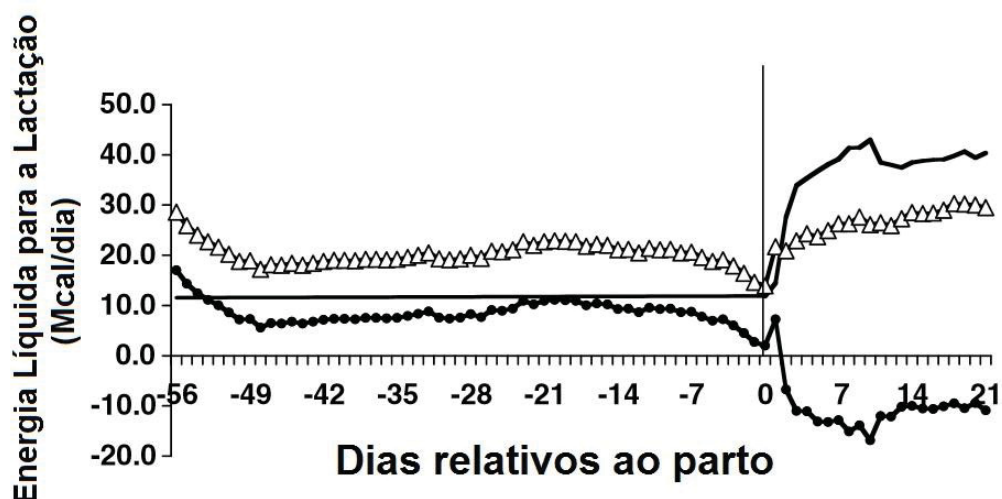


FIGURA 1 – Energia líquida (Mcal/dia) requerida (-----), consumida (ΔΔΔ) e balanço energético (●●●) de vacas leiteiras. Adaptado de GRUMMER (2008).

Outra constatação relevante é que a insulina plasmática, reguladora do metabolismo energético, diminui no final da gestação e após o parto (NRC, 2001). Além disso, este período é caracterizado por um estado de resistência à

insulina em tecidos periféricos, como o tecido adiposo e musculatura esquelética, que possuem receptores do tipo GLUT-4, que são dependentes da ação da insulina para a absorção de glicose. Assim, durante essa fase de menores concentrações e sensibilidade a insulina, esses tecidos têm menor consumo de glicose (AZEVEDO e COELHO, 2016). A ação reduzida da insulina nesses tecidos é parte da regulação metabólica que orienta os nutrientes, principalmente a glicose para a placenta, durante a gestação, e para a glândula mamária durante a lactação, que tem alta demanda de glicose (WEBER et al., 2016). Sendo que, nos tecidos fetais, glândula mamária e fígado predominam os receptores GLUT-1 para a absorção de glicose, que são independentes da ação da insulina (AZEVEDO e COELHO, 2016). Um quadro de menor sensibilidade à insulina facilita a lipólise e promove quase total supressão da lipogênese (RABELO e CAMPOS, 2009).

Concomitante à baixa ação da insulina, há maior funcionalidade da adrenalina e do glucagon e conseqüentemente o processo de lipólise é mais acentuado. A adrenalina e o glucagon intermediam a fosforilação da enzima lipase sensível a hormônio (LSH), que hidrolisa triglicerídeos (TG) em três ácidos graxos livres e glicerol (NELSON e COX, 2011). Os ácidos graxos resultantes são transportados pela albumina na forma de AGNE e levados para diversos tecidos, como músculo e fígado, para servir de fonte de energia (KOZLOSKI, 2016). No fígado, os AGNE entram nas mitocôndrias pela ação da carnitina palmitoiltransferase I (CPT-1) (DRACKLEY, 1999) e podem ser oxidados completamente em três etapas: oxidação dos ácidos graxos de cadeia longa a fragmentos de dois carbonos, na forma de acetil-CoA (processo de  $\beta$ -oxidação); oxidação de acetil-CoA no ciclo de Krebs, e transferência dos elétrons na cadeia respiratória mitocondrial, sendo que ao final desse processo há a conservação de energia na forma de ATP, formação de água e gás carbônico ( $\text{CO}_2$ ).

Quando há saturação na rota de oxidação total dos ácidos graxos, com excesso de ATP formado, outra rota possível é a oxidação parcial via formação de corpos cetônicos, que consiste na  $\beta$ -oxidação e sequencialmente, a condensação de 2 moléculas de acetil-CoA, formando acetoacetil-CoA, que com outra molécula de acetil-CoA forma  $\beta$ -hidroxi- $\beta$ -metilglutaril-CoA (HMG-CoA), o qual é clivado em acetoacetato, e reduzido a  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) ou convertido em acetona (Figura 2).



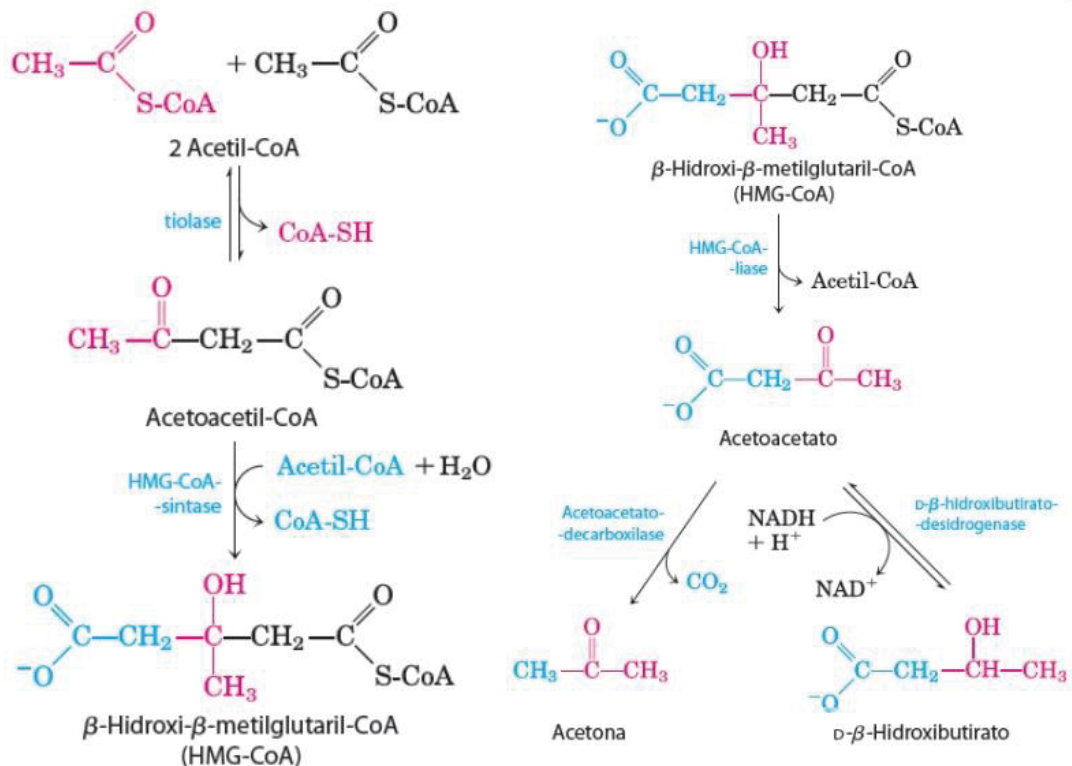


FIGURA 2 – Formação de corpos cetônicos (acetoacetato, acetona e β-hidroxi-butarato) a partir de 2 acetil-CoA. Fonte NELSON e COX (2011).

Os corpos cetônicos são exportados para os tecidos extra-hepáticos. A acetona, produzida em menores quantidades, é volátil e gera odor característico em animais com elevados níveis de corpos cetônicos no sangue (KANEKO et al., 2008). Já o acetoacetato e BHB são exportados, sendo solúveis no sangue e urina, e em tecidos como musculatura esquelética e cardíaca são convertidos em acetil-CoA pela enzima tioforase (não está presente no fígado) e geram energia pela oxidação do acetil-CoA no ciclo de Krebs (NELSON e COX, 2011).

O BHB também pode ser sintetizado na parede do rúmen, pela conversão do butirato a butiril-CoA, e uma sequência de processos resultantes em acetoacetato que é convertido a 3-hidroxi-butarato. O butirato absorvido é extensamente oxidado em corpos cetônicos na parede ruminal (KANEKO et al., 2008).

Outra rota, em caso de intensa mobilização de AGNE, é a oxidação hepática através dos peroxissomos, organelas presentes na maioria das células do corpo, que produzem mais calor, por não estarem ligados à cadeia respiratória (DRACKLEY, 1999) (Figura 3).

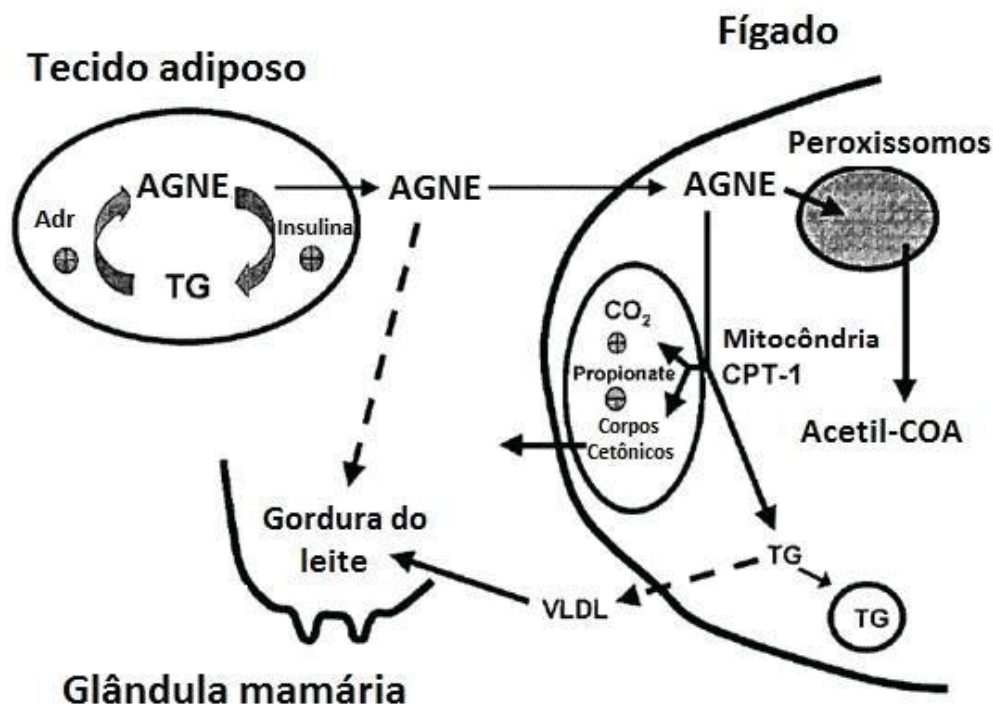


FIGURA 3 – Representação da relação entre o metabolismo de lipídios no tecido adiposo, fígado e glândula mamária. Adaptado de DRACKLEY (1999).

Outra rota de liberação de ácidos graxos é a reesterificação à TG. Estes são idealmente exportados para a corrente sanguínea por lipoproteínas de muito baixa densidade (*very low density lipoprotein* – VLDL). Entretanto, os ruminantes têm capacidade diminuída de sintetizar VLDL no fígado, devido ao suprimento dietético limitado de colina, que é necessária para a síntese da fosfatidilcolina presente nas membranas das VLDL. Sendo assim, a rota de exportação de TG é limitada (GRUMMER, 2008).

A falha na exportação de TG do parênquima hepático é a principal causa de esteatose hepática em vacas leiteiras (PINOTTI et al., 2003). O acúmulo de TG plasmático diminui a liberação de insulina (DRACKLEY, 1999), facilitando a mobilização de gordura durante o final da gestação. A sobrecarga hepática por AGNE, excedendo a capacidade do fígado de oxidar ácidos graxos, reesterificá-los ou exportá-los via VLDL, ou ainda, realizar cetogênese, faz com que seja provável que vacas de alta produção tenham acúmulo de triglicerídeos no fígado nas primeiras semanas de lactação (OVERTON e WALDRON, 2014). Conforme verificado por Weber et al. (2013), que observaram por meio de biopsias hepáticas, o aumento da concentração de lipídeos no fígado de vacas recém-

paridas (no dia seguinte ao parto), chegando ao nível máximo no 14º dia pós-parto.

## 2.2 NÍVEIS ENERGÉTICOS DAS DIETAS

A intensidade do balanço energético negativo, mobilização de gordura corporal e o perfil metabólico de vacas leiteiras durante o período de transição são dependentes dos níveis energéticos das dietas no período seco, conforme demonstrado no experimento de Mann et al. (2015). Em dietas de energia controlada no período seco (112% em relação às exigências, baseado nas estimativas do CNCPS v. 6.1) as vacas tiveram menores níveis de BHB (0,61 vs. 0,84 mmol/L) e AGNE (659 vs. 796  $\mu$ Eq/L) no pós-parto. Já o grupo de vacas com dieta de alta energia (152,5% em relação às exigências) no pré-parto, teve maiores produções de ácidos graxos pré-formados no leite, sugerindo maior lipomobilização. A produção de leite até 6 semanas foi similar entre os grupos de energia controlada e alta (43,8 vs. 43,9 kg/d, respectivamente), e houve aumento numérico no teor de gordura entre os grupos de energia controlada e alta (3,96 vs. 4,24%, respectivamente), o que pode ser explicado pelo aumento na concentração de ácidos graxos pré-formados no leite (MANN et al., 2015). Parece que aumento dos níveis energéticos da dieta no pré-parto aumentam o grau de resistência à insulina no pós-parto, neste caso a lipomobilização é mais acentuada (AZEVEDO e COELHO, 2016).

Os achados de Mann et al. (2015) corroboram com os dados de outros dois experimentos. Um deles é o de Zenobi et al. (2018), comparando dieta com excesso de energia (1,63 Mcal de EL<sub>L</sub>/kg de MS) e dieta com energia para manutenção (1,40 Mcal de EL<sub>L</sub>/kg de MS), fornecidas durante todo o período seco. As vacas alimentadas com dietas demasiadamente energéticas no período seco apresentaram balanço energético negativo mais intenso (-1,6 vs. -0,1 Mcal/dia) no pós-parto, o que implicaria em maior mobilização de reservas corporais. Ademais, no pós-parto o grupo com energia para manutenção no período seco teve maior IMS (24,1 vs. 22,9 kg/dia de MS) e produção de leite numericamente superior (43,2 vs. 41,7 kg/dia) até 15 semanas pós-parto e também numericamente superior até 40 semanas (36,4 vs. 35,7 kg/dia), em relação às vacas que receberam excesso de energia na dieta. Em outro experimento,

quando houve comparação de dietas mais energéticas (1,59 Mcal/kg de MS) com dietas menos energéticas (1,30 Mcal/kg de MS) durante o período seco, foi observado que a dieta de maior nível de energia ocasionou maiores concentrações sanguíneas de AGNE e BHB de vacas no pós-parto imediato (DANN et al., 2006).

Segundo Drackley (1999), a variação na IMS pode ser na faixa de 30 a 40% na primeira semana pós-parto, e vacas com qualquer distúrbio de saúde por ocasião do parto, têm a IMS reduzida durante os primeiros 20 dias após o parto. Ademais, Rabelo et al. (2003) sugerem que há limitação de consumo no pós-parto devido à capacidade física limitada de preenchimento do rúmen. Estes apontamentos sugerem que o consumo de energia é um fator relevante, visto que afeta o retorno ao balanço energético positivo, e é resultante de duas variáveis: ingestão de matéria seca e densidade energética da dieta.

Corroborando com esta afirmativa, os próprios dados de Rabelo et al. (2003) mostram que o adensamento energético da dieta no pós-parto (1,63 vs. 1,57 Mcal/kg de MS) aumentou a ingestão de energia (27,7 vs. 26,2 Mcal/d, respectivamente) de vacas leiteiras entre 1 a 20 DEL. Já os resultados de McCarthy et al. (2015a; 2015b), comparando duas dietas para vacas no pós-parto com níveis energéticos de 1,64 ou 1,56 Mcal/kg de MS (teor de amido de 26,2 e 21,5%, respectivamente), verificaram que o adensamento energético aumentou a IMS e diminuiu a intensidade de mobilização de reservas corporais, com menores concentrações de AGNE (533,1 vs. 696,6  $\mu$ Eq/L) e BHB (1,01 vs. 1,17 mmol/L) no sangue e maiores níveis de glicose (57,5 vs. 53,9 mg/dL) até 21 dias para o grupo com maior nível energético. Por outro lado, as vacas com dieta mais energética diminuíram a produção de sólidos totais e produziram leite com menores teores de gordura (4,38 vs. 5,01%) e proteína (3,31 vs. 3,84), com menor intensidade de balanço energético negativo (-6,76 vs. -11,83 Mcal/d). Assim, estratégias que favoreçam a IMS diminuem a intensidade do balanço energético negativo.

No entanto, a fonte de adensamento das dietas é outro fator a ser considerado. Segundo a teoria da oxidação hepática (OBA e ALLEN, 2003), o excesso de combustíveis energéticos adentrando no fígado gera a oxidação destes até ATP e promove a indução da saciedade, deprimindo a IMS. Esse cenário pode ser mais frequente em dietas de alta fermentabilidade e alto nível

de amido para vacas recém-paridas, pois para essas vacas associa-se ainda a mobilização de reservas corporais. Tal constatação foi feita no trabalho de Albornoz et al. (2018, 2019), que testando dietas com 22 ou 28% de amido, de alta ou baixa fermentabilidade (milho grão úmido ou milho seco moído) verificaram que o fator que causou depressão na IMS foi a alta fermentabilidade do amido, impactando no decréscimo da produção de leite e sólidos no pós-parto, corroborando a teoria da oxidação hepática.

### 2.3 AVALIAÇÃO DO PERFIL METABÓLICO

O perfil bioquímico do sangue reflete a situação metabólica dos tecidos animais, sendo possível avaliar lesões teciduais, *déficit* de funcionamento dos órgãos e adaptação do animal frente aos desafios nutricionais (GONZÁLEZ, 2018). Para vacas em período de transição, também é possível verificar o *status* inflamatório por meio de mensuração de metabólitos específicos (BIONAZ et al., 2007).

Considerando que o fígado tem papel crucial na síntese de proteínas plasmáticas, lipoproteínas de transporte e metabolismo, como conversão de amônia em ureia e gliconeogênese. Para vacas leiteiras, a aptidão do fígado em realizar essas funções de forma orquestrada é um ponto-chave para que haja expressão do potencial genético em produção de leite, sem haver desordens metabólicas (LOPES, BIONDO e SANTOS, 2007).

Respostas inflamatórias produzem citocinas pró-inflamatórias que estimulam o fígado na produção de proteínas de fase aguda positivas (PFA+), como haptoglobina e ceruloplasmina, em contrapartida, quando ocorrem lesões no fígado, há prejuízo na síntese hepática de proteínas de fase aguda negativas (PFA-), como a albumina e a paraoxonase, que são resultantes do metabolismo saudável e normal do fígado (BIONAZ et al., 2007).

A albumina é um bom indicador de saúde hepática. É uma proteína sintetizada nos hepatócitos, contribuindo com 80% da osmolaridade do plasma sanguíneo. Tem função no transporte de AGNE, aminoácidos, metais, cálcio, hormônios e bilirrubina. O nível de albumina pode ser indicador do nível proteico da dieta. Níveis diminuídos, concomitante com níveis de ureia normais ou aumentados e enzimas hepáticas elevadas, indicam falha na síntese hepática

(GONZÁLEZ, 2018). Para ruminantes o intervalo de referência é de 3,03 a 3,55 g/dL nos níveis séricos (KANEKO et al., 2008).

Outro indicador da saúde hepática é o colesterol, que é precursor de hormônios esteroides (adrenais e gonadais), vitamina D, ácidos biliares, e é constituinte das membranas celulares e micelas biliares (KANEKO et al., 2008). Pode ter origem exógena, proveniente dos alimentos, mas a maior parte é endógena, sintetizada principalmente no fígado, a partir do acetil-CoA, e uma pequena parcela nas gônadas, no intestino, na glândula adrenal e na pele. O colesterol circula no plasma ligado às lipoproteínas, sendo que cerca de 2/3 dele está esterificado com ácidos graxos. O nível de colesterol plasmático é indicador do total de lipídeos no plasma, pois corresponde a aproximadamente 30% do total (GONZÁLEZ, 2018). O intervalo de referência para colesterol total em ruminantes é entre 80 a 120 mg/dL (KANEKO et al., 2008).

Por outro lado, a bilirrubina também pode indicar o *status hepático*, porém níveis aumentados acontecem em virtude de lesões hepatocelulares. A maior parte da bilirrubina no plasma deriva da degradação dos eritrócitos velhos no baço, e o restante provém da degradação da mioglobina, dos citocromos e de eritrócitos imaturos na medula óssea. A bilirrubina é formada após a extração da molécula de ferro, do grupo heme da hemoglobina liberada dos eritrócitos. Assim, a bilirrubina livre formada é transportada até o fígado ligada à albumina plasmática, sendo esta a bilirrubina indireta. No fígado, a bilirrubina é desligada da albumina e conjugada com o ácido glicurônico para formar bilirrubina conjugada. Esta última é solúvel em água e excretada pela bile (GONZÁLEZ, 2018). Foi observado aumento sérico de bilirrubina total aos 7 DEL, e diminuição aos 30 DEL, em relação ao dia -7 antes do parto para vacas leiteiras (CUI et al., 2019). Sendo que os valores de referência para a bilirrubina total são entre 0,01 à 0,5 mg/dL (KANEKO et al., 2008).

Relacionando bilirrubina, albumina e colesterol mensurados no 3º e 28º dias pós-parto de vacas leiteiras, Trevisi et al. (2012) desenvolveram um índice de funcionalidade hepática o qual indica o estado inflamatório de vacas no pós-parto. Quanto menor e mais negativo o índice, há associação com alta resposta inflamatória, desordens metabólicas e aumento de PFA+, ao passo que vacas com alta funcionalidade hepática (índice positivo) são caracterizadas pelo aumento mais rápido nos níveis de albumina e colesterol, bem como menores



níveis de bilirrubina no primeiro mês de lactação. Ademais, no trabalho de Zhou et al. (2016) houve aumento significativo na produção de leite entre 14 e 28 DEL de vacas com alto índice de funcionalidade hepática.

Gallagher et al. (2019) adaptaram o índice de Trevisi et al. (2012) para apenas uma coleta de sangue durante o período pós-parto, denominando a relação entre albumina, colesterol e bilirrubina de índice de saúde metabólica (ISM). Os autores verificaram que o aumento de uma unidade no índice (+1) representou aumento de 0.88 kg leite dia<sup>-1</sup> na quarta semana após o parto.

Já a glicose em vacas leiteiras aumenta drasticamente no dia do parto, diminuindo no pós-parto (CUI et al., 2019). Tal aumento ocorre em virtude de elevados níveis de glucagon e glicocorticoides no dia do parto, que promovem a depleção do glicogênio hepático (NRC, 2001). A glicose é necessária na glândula mamária para a síntese de lactose, e tipicamente pouca glicose é oriunda da dieta. Logo, outros precursores entram na via da gliconeogênese no fígado para gerar glicose. O ácido propiônico gera 50% das exigências de glicose, os aminoácidos gliconeogênicos contribuem com 25% e o ácido láctico com 15%. O nível de glicose sanguínea usualmente tem poucas variações, em função do controle endócrino da insulina e do glucagon sobre o glicogênio e dos glicocorticoides sobre a gliconeogênese (GONZÁLEZ, 2018). Para ruminantes o intervalo de referência é de 45 a 75 mg/dL.

Quando o aporte energético é inadequado, o glucagon estimula a degradação de glicogênio hepático e a síntese de glicose. Já o balanço energético negativo leva à mobilização e quebra de triglicerídeos para fornecer AGNE como fonte de energia na forma de acetil-CoA e glicerol como precursor de glicose hepática (GONZÁLEZ, 2018). Assim, a concentração de AGNE sérica é um preditor para avaliar a intensidade da mobilização de reservas corporais em vacas leiteiras periparturientes.

A concentração sanguínea de AGNE aumenta no pré-parto e alcança o pico no dia do parto, ou no dia seguinte, reduzindo suas concentrações nos dias subsequentes (LEBLANC et al., 2005). Segundo Ospina et al. (2010b) os valores limiares de AGNE recomendados para vacas pré-parto e pós-parto são iguais ou abaixo de 0,33 e 0,72 mmol/L, respectivamente.

Quando o aporte de AGNE ultrapassa a capacidade oxidativa do fígado, há formação de metabólitos intermediários, os corpos cetônicos. Entre estes, o



BHB por ser estável, pode ser mensurado no sangue, e níveis entre a 1,2 mmol/L e 2,9 mmol/L são caracterizados como cetose subclínica. A sintomatologia clínica de cetose ocorre tipicamente a partir de BHB superior ou igual a 2,9 mmol/L (MCART et al., 2012).

No trabalho de McArt et al. (2012), os autores mostraram que o pico de prevalência de cetose ocorreu no 5º dia após o parto, onde 28,9% das vacas avaliadas tiveram o BHB igual ou superior a 1,2 mmol/L. O metabólito também pode ser avaliado no leite, e a concentração de 0,1 mmol/L tem alta correlação com o valor de 1,2 mmol/L à nível sérico (BERGE et al., 2014). Outra metodologia de alta sensibilidade e especificidade para diagnóstico de vacas com cetose é o uso de tiras-teste, um teste rápido para mensuração de BHB, que foi capaz de detectar com precisão amostras com BHB, comparativamente ao teste padrão-ouro, que é a análise bioquímica em soro ou plasma por meio de kit comercial (PINEDA e CARDOSO, 2015).

Além disso, para avaliação de lesões hepáticas podem ser dosadas duas enzimas. Uma delas é a enzima aspartato aminotransferase (AST) que é encontrada no fígado, eritrócitos e na musculatura esquelética e cardíaca (KANEKO et al., 2008). É uma enzima mitocondrial e indicadora principalmente de lesão hepática em ruminantes (GONZÁLEZ e SILVA, 2006; LOPES, BIONDO e SANTOS, 2007). A sensibilidade da AST em bovinos é de 94% para esteatose hepática e de 53% para abscessos hepáticos, e os valores entre 78 a 132 U/L são considerados adequados para vacas leiteiras (KANEKO et al., 2008). Foi encontrada maior atividade de AST em vacas no pós-parto (0 a 30 DEL), em relação ao pré-parto (-7 dias em relação ao parto) (CUI et al., 2019). Outra enzima que indica desordens hepáticas e biliares é a gama glutamil transferase (GGT), que está presente em células epiteliais biliares, e tem maior atividade em bovinos do que em outras espécies (KANEKO et al., 2008). O intervalo de referência observado em estudo com vacas no início da lactação segundo o trabalho de Moretti et al. (2017) é de 12-48 U/L.

Já para a avaliação do metabolismo mineral em vacas recém-paridas, pode-se mensurar o cálcio total, que tem grande relevância, visto que Reinhardt et al. (2011) observaram alta prevalência de hipocalcemia no pós-parto (cálcio total < 2,0 mmol/L), e tal prevalência aumentou com a idade e ordem de lactação. Na região Sul do Brasil, Carneiro et al. (2017) encontraram incidência de 40% de

hipocalcemia subclínica (cálcio total  $\leq 2,0$  mmol/L), em dois grandes rebanhos leiteiros comerciais.

O cálcio é um macromineral que tem desde funções estruturais (integridade de ossos e dentes) até cofator na ativação de enzimas. É necessário para a manutenção da estabilidade das membranas de células nervosas e a contratividade das células musculares, além das funções de liberação de hormônios, coagulação sanguínea e ligação entre células (NRC, 2001; CUNNINGHAM, 2004). Uma vaca adulta, de 680 kg e produzindo 30 L/d de leite, tem exigência de 57,7 g/d de cálcio, e grande parcela desta é relacionada à síntese de leite, que tem em sua composição 1,22 g de cálcio/L de leite (NRC, 2001). A calcemia em vacas adultas deve ser mantida entre 8,5 a 10 mg/dL (GOFF, 2008), equivalente a 2,1 a 2,5 mmol/L (GONZÁLEZ e SILVA, 2006).

O colostro tem alta demanda de cálcio, cerca de 4 a 5 vezes a concentração sérica, assumindo concentrações entre 1,7 a 2,3 g de cálcio por kg de colostro produzido (GOFF et al., 2005), para uma produção de 6 a 8 kg de colostro. Esse aumento abrupto nas exigências de cálcio em vacas periparturientes desafia seus mecanismos homeostáticos (VALLDECABRES et al., 2018). Mesmo com adaptações fisiológicas para manter a normocalcemia, muitas vacas não conseguem atender essa demanda sem comprometer o cálcio sistêmico, e como resultado podem passar por hipocalcemia clínica ( $\text{Ca} < 5,5$  mg/dL), ou, na ausência de sinais clínicos, hipocalcemia subclínica ( $\text{Ca} < 8,5$  mg/dL) (LENO et al., 2017).

#### 2.4 MONITORAMENTO DO ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL

O monitoramento do escore de condição corporal (ECC) permite avaliar o grau de deposição ou perda de reservas adiposas corporais. Em bovinos leiteiros, a escala varia de 1 a 5 pontos, com intervalos de 0,25, sendo o escore 1 uma vaca excessivamente magra e o escore 5 uma vaca extremamente gorda (EDMONSON et al., 1989).

Roche et al. (2009) relataram que a redução no ECC ao redor do parto está associada com menor produção de leite e redução nas chances de prenhez, enquanto elevado ECC ao parto é relacionado com maiores chances de desordens metabólicas no pós-parto.

A perda excessiva de ECC no período seco e pré-parto, na magnitude de 0,5-0,75 pontos, foi correlacionada com maiores chances de desordens uterinas no trabalho de Chebel et al. (2018), provavelmente porque essas vacas tiveram balanço energético negativo mais acentuado e prejuízo na resposta imune durante o período periparturiente. Por outro lado, as vacas que mantiveram o ECC ou ganharam em pequena magnitude (0,25 pontos) apresentaram maior produção de leite ao longo dos 305 dias em lactação (40,6 vs. 39,58 kg/d, respectivamente).

Além disso, o consumo voluntário tem relação inversa com a perda de peso, e vacas mais gordas perdem mais peso, têm maior dificuldade em aumentar a IMS e têm balanço energético negativo mais acentuado, ao passo que aquelas mais magras perdem menos peso e aumentam mais rapidamente o consumo voluntário (LAGO et al., 2001).

Logo, como apontado nos trabalhos citados anteriormente, o monitoramento e controle do ECC é favorável para a manutenção da saúde e evitar desordens metabólicas, como deslocamento de abomaso, cetose e esteatose hepática.

## REFERÊNCIAS

- ALBORNOZ, R. I.; HARVATINE, K. J.; ALLEN, M. S. Diet starch concentration and starch fermentability affect energy intake and energy balance of cows in the early postpartum period. **Journal of Dairy Science**, v. 102, p. 5161-5171, 2019.
- ALBORNOZ, R.I.; ALLEN, M.S. Highly fermentable starch at different diet starch concentrations decreased feed intake and milk yield of cows in the early postpartum period. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 8902-8915, 2018.
- AZEVEDO, R. A.; COELHO, S. G. Resistência à insulina no período de transição de vacas leiteiras. **Nutritime – Revista Eletrônica**, v.13, 2016.
- BELL, A.W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 2804-2819, 1995.
- BERGE, A.C.; VERTENTEN, G. A field study to determine the prevalence, dairy herd management systems, and fresh cow clinical condition associated with ketosis in western European dairy herds. **Journal Dairy Science**, v. 97, p. 2145-2154, 2014.
- BIONAZ, M.; TREVISI, E.; CALAMARI, L.; LIBRANDI, F.; FERRARI, A.; BERTONI, G. Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 1740-1750, 2007.
- CARNEIRO, E. W.; HONORATO, S. H.; ICHIKAWA, E. E.; ALMEIDA, R. Increased serum calcium in dairy cows with oral calcium formate supplementation in the postpartum period. In: AMERICAN DAIRY SCIENCE ASSOCIATION, 2017, Pittsburgh. **Anais...Champaign: JOURNAL OF DAIRY SCIENCE**, 2017. v.100, p.87-88.
- CHEBEL, R. C., MENDONÇA, L. G. D., BARUSELLI, P. S. Association between body condition score change during the dry period and postpartum health and performance. **Journal of Dairy Science**, v.101, p.4595-4614, 2018.
- CUI, L.; WANG, H.; DING, Y.; LI, J.; LI, J. Changes in the blood routine, biochemical indexes and the pro-inflammatory cytokine expressions of peripheral leukocytes in postpartum dairy cows with metritis. **BMC Veterinary Research**, v. 15, p. 157, 2019.

CUNNINGHAM, J.G. Glândulas endócrinas e suas funções. In: \_\_\_\_\_. **Tratado de fisiologia veterinária**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2004, Cap.33, p.350-380.

DANN, H.M.; LITHERLAND, N.B.; UNDERWOOD, J.P.; BIONAZ, M.; D'ANGELO, A.; MCFADDEN, J.W.; DRACKLEY, J.K. Diets during far-off and close-up dry periods affect periparturient metabolism and lactation in multiparous cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 3563-3577, 2006.

DRACKLEY, J.K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2259-2273, 1999.

EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D.; FARVER, T.; WEBSTER, G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.72, p.68-78, 1989.

EMBRAPA. **Anuário Leite 2018**. Disponível em <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1094149/anuario-leite-2018-indicadores-tendencias-e-oportunidades-para-quem-vive-no-setor-leiteiro>>. Acesso em: 12 jan. 2020.

EMBRAPA. **Anuário Leite 2019**. Disponível em <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1109959>>. Acesso 13 fev. 2020.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Overview of global dairy market developments in 2018**. Disponível em <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

GALLAGHER, K. R.; KERWIN, A. L.; TIKOFSKY, J. N.; MCCARTHY, M. M.; OVERTON, T. R. Rumen-protected methionine supplementation during early lactation and associations with plasma amino acid, metabolite concentrations and a novel metabolite health index. **Journal of Dairy Science**, v. 102(1), p. 21, 2019.

GODDEN, S.M.; STEWART, S.C.; FETROW, J.F.; RAPNICKI, P.; CADY, R.A.; WEILAND, W.; SPENCER, H.; EICKER, S. The relationship between herd rbST supplementation and other factors and risk for removal for cows in Minnesota Holstein dairy herds. In: FOUR-STATE NUTRITION CONFERENCE, 2003, LaCrosse, WI. **Proceedings...** Ames: MWPS - MidWest Plan Service publication, 2003. p. 55-64

- GOFF, J. P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 176, p. 50–57, 2008.
- GOFF, J. P.; SÁNCHEZ, J. M.; HORST, R. L. Hypocalcemia biological effects and strategies for prevention. In: MINERAL NUTRITION CONFERENCE, 2005, Tennessee. **Anais...** Knoxville: Department of Animal Science/University of Tennessee, 2005, p.5–10.
- GONZÁLEZ, F. **Doze leituras em bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2018, 159p.
- GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2006.
- GRUMMER, R. R. Nutritional and management strategies for the prevention of fatty liver in dairy cattle. **The Veterinary Journal**, v.176, p.10-20, 2008.
- HAYIRLI, A., BERTICS, S. J., GRUMMER, R. R. Effects of slow release insulin on production, liver triglyceride and metabolic profiles of Holsteins in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.85, p. 2180–2191, 2002.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2008.
- KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. 3.ed. Santa Maria: UFSM, 2016, 212p.
- LAGO, E. P.; PIRES, A. V.; SUSIN, I.; FARIA, V. P.; LAGO, L. A. Efeito da condição corporal ao parto sobre alguns parâmetros do metabolismo energético, produção de leite e incidência de doenças no pós-parto de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p. 1544-1549, 2001.
- LEBLANC, S.J.; LESLIE, K.E.; DUFFIELD, T.F. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 159-170, 2005.
- LENO, B. M.; RYAN, C. M.; STOKOL, T.; KIRK, D.; ZANZALARI, K. P.; CHAPMAN, J. D.; OVERTON, T. R. Effects of prepartum dietary cation-anion difference on aspects of peripartum mineral and energy metabolism and performance of multiparous Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 4604-4622, 2017.

LOPES, S. T. A.; BIONDO, A. W.; SANTOS, A. P. **Manual de Patologia Clínica Veterinária**. 3.ed. Santa Maria: UFSM/Departamento de Clínica de Pequenos Animais, 2007, 107p.

MANN, S.; LEAL YEPES, F.A.; OVERTON, T.R.; WAKSHLAG, J.J.; LOCK, A.L.; RYAN, C.M.; NYDAM, D.V. Dry period plane of energy: effects on feed intake, energy balance, milk production, and composition in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 3366-3382, 2015.

MCART, J. A. A.; NYDAM, D. V.; OETZEL, G. R. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 5056-5066, 2012.

MCCARTHY, M. M.; YASUI, T.; RYAN, C. M.; MECHOR, G. D.; OVERTON, T. R. Performance of early-lactation dairy cows as affected by dietary starch and monensin supplementation. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 3335-3350, 2015a.

MCCARTHY, M.M.; YASUI, T.; RYAN, C.M.; MECHOR, G.D.; OVERTON, T.R. Metabolism of early lactation dairy cows as affected by dietary starch and monensin supplementation. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 1-15, 2015b.

MORETTI, P.; PALTRINIERI, S.; TREVISI, E.; PROBO, M.; FERRARI, A.; MINUTI, A.; GIORDANO, A. Reference intervals for hematological and biochemical parameters, acute phase proteins and markers of oxidation in Holstein dairy cows around 3 and 30 days after calving. **Research in Veterinary Science**, v. 114, p. 322-331, 2017.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2011, 1274p.

NUTRIENT requirements of dairy cattle. 7.ed. Washington: National Research Council, 2001, 356p.

OBA, M.; ALLEN, M.S. Dose-response effects of intraruminal infusion of propionate on feeding behavior of lactating cows in early or mid-lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 2922-2931, 2003.

OSPINA, P. A.; NYDAM, D. V.; STOKOL, T.; OVERTON, T. R. Associations of elevated nonesterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 1596-1603, 2010b.



OSPINA, P.A.; NYDAM, D.V.; STOKOL, T.; OVERTON, T.R. Evaluation of nonesterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 546-554, 2010a.

OVERTON, T. R.; WALDRON, M. R. Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 105-119, 2004.

PINEDA, A.; CARDOSO, F. C. Technical note: Validation of a handheld meter for measuring  $\beta$ -hydroxybutyrate concentrations in plasma and serum from dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 8818-8824, 2015.

PINOTTI, L.; BALDI, A.; POLITIS, I.; REBUCCI, R.; SANGALLI, L.; DELL'ORTO, V. Rumen-protected choline administration to transition cows: effects on milk production and vitamin E status. **Journal of Veterinary Medicine**, v.50, p.18-21 2003.

RABELO, E.; CAMPOS, B.G. Fisiologia do período de transição. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 8., 2009, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: CIÊNCIA ANIMAL BRASILEIRA, 2009.

RABELO, E.; REZENDE, R. L.; BERTICS, S. J.; GRUMMER, R. R. Effects of transition diets varying in dietary energy density on lactation performance and ruminal parameters of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 916-925, 2003.

REINHARDT, T. A.; LIPPOLIS, J. D.; MCCLUSKEY, B. J.; GOFF, J. P.; HORST, R. L. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. **The Veterinary Journal**, v. 188, p. 122-124, 2011.

ROCHE, J. R., FRIGGENS, N. C.; KAY, J. K.; FISHER, M. W.; STAFFORD, K. J.; BERRY, D. P. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 5769–5801, 2009.

SORDILLO, L. M.; RAPHAEL, W. Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders. **Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice**, v. 29, p. 267-278, 2013.

TREVISI, E.; AMADORI, M.; COGROSSI, S.; RAZZUOLI, E.; BERTONI, G. Metabolic stress and inflammatory response in high-yielding periparturient dairy cows. **Research in Veterinary Science**, v. 93, p. 695–704, 2012.



VALLDECABRES, A.; PIRES, J. A. A.; SILVA-DEL-RÍO, N. Effect of prophylactic oral calcium supplementation on postpartum mineral status and markers of energy balance of multiparous Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, v.101, p.4460-4472, 2018.

WEBER, C.; HAMETNER, C.; TUCHSCHERER, A.; LOSAND, B.; KANITZ, E.; OTTEN, W.; SINGH, S. P.; BRUCKMAIER, R. M.; BECKER, F.; KANITZ, W.; HAMMON, H. M. Variation in fat mobilization during early lactation differently affects feed intake, body condition, and lipid and glucose metabolism in high-yielding dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 165-180, 2013.

WEBER, C.; SCHAFF, C.T.; KAUTZSCH, U.; BORNER, S.; ERDMANN, S.; GORS, S.; RONTGEN, M.; SAUERWEIN, H.; BRUCKMAIER, R.M.; METGES, C.C.; KUHLA, B.; HAMMON, H.M. Insulin-dependent glucose metabolism in dairy cows with variable fat mobilization around calving. **Journal of Dairy Science**, v.99, p.1-15, 2016.

ZENOBI, M.G., GARDINAL, R., ZUNIGA, J.E., DIAS, A.L.G.; NELSON, C.D.; DRIVER, J.P.; BARTON, B.A.; SANTOS, J.E.P; STAPLES, C.R. Effects of supplementation with ruminally protected choline on performance of multiparous Holstein cows did not depend upon prepartum caloric intake. **Journal of Dairy Science**, v.101, p.1-23, 2018.

ZHOU, Z.; LOOR, J. J.; PICCIOLI-CAPPELLI, F.; LIBRANDI, F.; LOBLEY, G. E.; TREVISI, E. Circulating amino acids during the peripartal period in cows with different liver functionality index. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 1-11, 2016.

### **3 CAPÍTULO I: METABOLISMO ENERGÉTICO DURANTE O PERÍODO DE TRANSIÇÃO INFLUENCIA A SAÚDE HEPÁTICA E IMPACTA PARÂMETROS PRODUTIVOS DE VACAS LEITEIRAS**

#### **3.1 RESUMO**

O objetivo deste estudo foi avaliar vacas holandesas em período de transição, de diferentes rebanhos leiteiros, em relação ao metabolismo energético e hepático e suas relações com a produção e composição do leite no início da lactação. Foram avaliadas 311 vacas no pré-parto (-21 a -1 dias antes do parto) e 431 vacas no pós-parto (0 a +21 dias após o parto), oriundas de 26 rebanhos paranaenses. Cada fazenda foi visitada uma única vez e cada vaca teve uma coleta de sangue no dia da visita. Foram mensurados os metabólitos AST, GGT, bilirrubina, colesterol, glicose, albumina, cálcio, AGNE e BHB. Através dos metabólitos albumina, bilirrubina e colesterol foi calculado o índice de saúde metabólica (ISM) nas vacas pós-parto entre 0 a 7 DEL, 8 a 14 DEL e 15 a 21 DEL. Vacas foram categorizadas por níveis de BHB, ECC e ordem de lactação no pré-parto, e por ordem de lactação, níveis de BHB, AGNE, ISM e ECC no pós-parto. Observou-se que a glicose teve correlação negativa com ordem de lactação, tanto em vacas avaliadas no pré-parto quanto no pós-parto. Maiores concentrações de BHB no pré-parto ( $\geq 0.6$  mmol/L) resultaram em menor produção de leite no primeiro controle leiteiro no pós-parto (realizado entre 5 a 45 DEL). Escore de condição corporal  $\geq 3,5$  implicou em maior relação gordura:proteína no primeiro controle leiteiro após o parto. Para as vacas avaliadas no pós-parto, o DEL foi correlacionado com cálcio e colesterol. Vacas com baixo ECC, alto AGNE ou alto BHB apresentaram os valores mais negativos de ISM. Os metabólitos bilirrubina, AST, BHB e AGNE foram todos correlacionados entre si, e positivamente com a relação gordura:proteína. Vacas com ECC  $> 3,5$  ou BHB  $\geq 1,2$  mmol/L apresentaram maior porcentagem de gordura no leite no primeiro controle, e as vacas com BHB  $\geq 1,2$  mmol/L, ECC  $> 3,5$ , AGNE  $\geq 0,72$  mmol/L e ISM baixo (média de -2,832) tiveram maior relação gordura:proteína. Com relação ao ISM, vacas com alto índice (média de 2,17) produziram mais leite e com maior teor de proteína no primeiro controle leiteiro após o parto.

1 “Written using Journal of Dairy Science® Instructions to Authors”.

2 **Energy metabolism during the transition period influences liver health and**  
3 **impacts the productive performance of dairy cows** *By Askel et al.* The success of  
4 the dairy cow transition period impacts health and productivity in lactation. The best  
5 adaptation to the requirements of the beginning of lactation, result in a less marked  
6 negative energy balance, with lower levels of circulating BHB and NEFA, and  
7 consequently a higher metabolic health index (MHI). The index is indicative of liver  
8 health and related to less milk and protein production at the beginning of lactation. In  
9 addition, a greater reserve of adipose tissue, and high levels of BHB and NEFA are  
10 the result of lipomobilization at the beginning of lactation, which results in greater fatty  
11 content in milk.

12 Running Head: METABOLISM OF COWS IN TRANSITION PERIOD

13 **Energy metabolism during the transition period influences liver health and**  
14 **impacts the productive performance of dairy cows**

15 **E. J. Askel\*, A. M. Fillus\* and M. Poczynek\*, R. Almeida\*†**

16 \*Department of Animal Science, Federal University of Paraná, Curitiba, PR  
17 80035050 Brazil

18 †Corresponding author: ralmeida@ufpr.br

## 20 3.2 ABSTRACT

21 The objective of this study was to evaluate Holstein dairy cows in transition  
22 period from different farms related to energy and liver metabolism, and their  
23 relationship with milk yield and composition at the beginning of lactation. Three  
24 hundred eleven dairy animals were evaluated in the prepartum (-21 to -1 days before  
25 calving) and 431 dairy cows were evaluated in the postpartum (0 to 21 DIM), from 26  
26 herds in Paraná State, Southern Brazil. Each farm was visited only once and each  
27 cow had a blood sample collected. The serum metabolites AST, GGT, bilirubin,  
28 cholesterol, glucose, albumin, calcium, NEFA and BHB were measured. Through the  
29 metabolites albumin, bilirubin and cholesterol was calculated the metabolite health  
30 index (MHI) in the postpartum cows between 0 to 7 DIM, 8 to 14 DIM and 15 to 21  
31 DIM. For statistical analysis the prepartum cows were dichotomized by lactation order,  
32 BHB and body condition score (BCS) levels, whereas postpartum cows were  
33 categorized by lactation order, BHB, NEFA, MHI and BCS. We observed that glucose  
34 had a negative correlation with lactation order, in both prepartum and postpartum

35 cows. Higher BHB levels in the prepartum period ( $\geq 0.6$  mmol/L) reflected in lower milk  
36 production in the first test-day after calving (5 to 45 DIM). Body condition score  $\geq 3.5$   
37 implied higher fat:protein ratio (FPR) in the first test-day. For cows evaluated in the  
38 postpartum period, the DIM was correlated with calcium and cholesterol. In addition,  
39 cows with low BCS, high NEFA or high BHB had the most negative MHI values. The  
40 metabolites bilirubin, AST, BHB and NEFA were all correlated with each other, and  
41 positively with FPR. Cows with BCS  $> 3.5$  or BHB  $\geq 1.2$  mmol/L showed higher milk  
42 fat content in the first test-day, and cows with BHB  $\geq 1.2$  mmol/L, BCS  $> 3.5$ , NEFA  $\geq$   
43 0.72 mmol/L and low MHI (mean: -2.832) had a higher FPR. In relation to MHI, cows  
44 with high MHI (mean: 2.17) produced more milk and higher milk protein content in the  
45 first test-day.

46 **Keywords:**  $\beta$ -hydroxybutyrate, Cholesterol, Liver, Metabolic Health Index

47

### 48 3.3 INTRODUCTION

49

50 The transition period is characterized as the three weeks before and the three  
51 weeks after parturition. At this stage, dairy cows go through a period of negative energy  
52 (Roche et al., 2009) and metabolizable protein balance (Husnain and Santos, 2019),  
53 at the beginning of lactation, as a result of the increased metabolic demand of the  
54 mammary gland and due to a low DM intake (Drackley, 1999). Thus, homeorhetic  
55 mechanisms are orchestrated to adapt the cow to the new challenges (Roche et al.  
56 2009).

57 Plasma insulin decreases at the end of pregnancy and after calving (NRC,  
58 2001). And a typical state of insulin resistance is part of the metabolic regulation that  
59 guides nutrients, mainly glucose, to tissues that are less dependent of the insulin  
60 action, such as the placenta, during pregnancy and the lactating mammary gland  
61 (Weber et al., 2016). Less sensitivity to insulin, facilitates lipolysis and promotes almost  
62 total suppression of lipogenesis (Rabelo and Campos, 2009).

63 Non-esterified fatty acids (NEFA) from lipomobilization are transported by  
64 albumin, carried mainly to the liver. In the liver, NEFA enter the mitochondria (Drackley,  
65 1999) and they can be  $\beta$ -oxidized to the formation of ATP, or partially oxidized to form  
66 ketone bodies (acetone, BHB and acetoacetate).

67 Liver overload by AGNE, exceeding the liver's ability to oxidize fatty acids, re-  
68 esterify TG or export them via very low density lipoproteins (VLDL), or even perform

69 ketogenesis, makes high-producing cows likely to accumulate TG in the liver in the  
70 first weeks of lactation (Overton and Waldron, 2014). The accumulation of triglycerides  
71 in the liver, can impair liver function, compromising the ability of urea synthesis and  
72 glucose synthesis from propionate (Drackley, 1999).

73 In addition, inflammatory responses produce pro-inflammatory cytokines that  
74 stimulate the liver in the production of positive acute phase proteins (APP +), such as  
75 haptoglobin and ceruloplasmin. In contrast, when liver damage occurs, there are  
76 losses in the hepatic synthesis of negative acute phase proteins (APP -), such as  
77 albumin and paraoxonase, which are the result of healthy and normal liver metabolism  
78 (Bionaz et al., 2007).

79 Relating bilirubin, albumin and cholesterol measured with 3 and 28 d after  
80 calving, Trevisi et al. (2012) developed a Liver Functionality Index (LFI) which indicates  
81 the inflammatory state of cows in the postpartum period and can indicate failure in liver  
82 synthesis and liver damage. When the LFI is lower (more negative), there is an  
83 association with high inflammatory response, metabolic disorders and increased APP  
84 +. Whereas cows with high LFI are characterized by higher concentrations of albumin  
85 and cholesterol, as well as lower levels of bilirubin, in the first month of lactation.  
86 Furthermore, in the work of Zhou et al. (2016) there was a significant increase in milk  
87 yield between 14 and 28 DIM of cows with high LFI (mean:  $1.65 \pm 0.11$ ) compared to  
88 cows with low LFI (mean:  $-3.69 \pm 0.64$ ) (37.9 vs. 32.9 kg/d, respectively).

89 Although LFI is a robust index, it demands a second blood collection on 28 d,  
90 which is difficult to implement on commercial dairy herds, because typically at this  
91 stage of lactation, the fresh cow already was moved to the high-producing group.  
92 Gallagher et al. (2019), with only one blood sample collection until 21 DIM, suggested  
93 the Metabolic Health Index (MHI), including the blood concentrations of albumin,  
94 bilirubin and cholesterol. In their work, a 1-unit increase in MHI (+1) resulted in more  
95 0.88 kg of milk in the fourth week after calving. And the MHI range in this work was -  
96 10.5 to 6.57.

97 Thus, our hypothesis was that different categories of MHI, BCS, BHB and NEFA  
98 could impact changes in the energy metabolism of prepartum or postpartum cows and  
99 in their productive performance. The aim of the present study was to evaluate  
100 metabolites related with energy metabolism and productive performance in the first  
101 test-day after calving, as well as milk yield up to 100 DIM.

## 103 3.4 MATERIAL AND METHODS

104

105 The Animal Research Ethics Committee of the Federal University of Paraná  
106 approved all procedures involving animals in this study (N° 42/2019).

107

### 108 **3.4.1 Population Study**

109 The experiment was carried out from July 15 to August 13, 2019. Twenty-six  
110 dairy farms from Paraná State, Southern Brazil, were visited and data were collected  
111 from farmers affiliated to the three dairy cooperatives from the same region, in  
112 partnership with their technicians.

113 The herds included in this study were those registered in the monthly official  
114 milk recording program by the Holstein Association of Paraná State (APCBRH,  
115 Curitiba, PR, Brazil), and with a minimum of 100 lactating dairy cows. Preferably, they  
116 had prepartum and postpartum groups, with headlocks in both groups, but these were  
117 not excluding factors.

118 Blood samples were collected from 495 heifers and cows prepartum, with a  
119 predicted calving date of 21 d or lower. But after rescuing the actual calving date, cows  
120 that were more than 21 d away from calving when the collection was performed were  
121 excluded from the study. Hemolyzed serum samples, and cows discarded before  
122 calving were also withdrawn from the study. After editing, 311 prepartum animals  
123 remained in the study (107 nulliparous and 204 parous). As for the postpartum group,  
124 482 cows initially entered. After checking the official calving date and the quality of the  
125 blood sample, cows with DIM greater than 21 days were excluded from the study, and  
126 blood samples with excessive hemolysis that would hinder biochemical analyzes. Thus  
127 431 postpartum Holstein cows remained in the study and their samples were analyzed  
128 (167 primiparous and 264 multiparous).

129 Cow information like calving date, lactation number and DIM were collected with  
130 the support of herd managers and APCBRH reports. Reports from APCBRH also  
131 provided monthly milk yield in the first 4 test-days, and fat and protein contents in the  
132 first test-day after parturition, and projections of accumulated milk yield at 100 and 305  
133 days. Using milk fat and protein contents in the first test-day of lactation, the fat:protein  
134 ratio (FPR) was calculated for all cows that had the first test-day between 5 and 45  
135 DIM.

136 For cows and heifers in the prepartum groups, urine collection was performed  
 137 to measure urinary pH, and the serum metabolites BHB, cholesterol, AST, GGT,  
 138 albumin, total bilirubin and glucose were analyzed. For postpartum cows, NEFA,  
 139 cholesterol, AST, GGT, albumin, total bilirubin and serum glucose were measured, as  
 140 well as BHB through  $\beta$ -ketones test strips. All cows were evaluated for BCS for the  
 141 same person in all herds.

142

### 143 3.4.2 Data Collection and Samples

144 Prepartum and postpartum cows were identified, and only prepartum cows and  
 145 heifers within -30 to -21 d before the expected calving date were enrolled in the study.  
 146 In the same manner, only postpartum cows until +21 d after the calving date were kept  
 147 in the study.

148 These animals were handled at a convenient time and place for the farm during  
 149 the visit period, such as after milking (for postpartum cows) or during or immediately  
 150 after feeding (for prepartum animals), in headlock in the housing shed itself, or at the  
 151 farm's management center.

152 Each cow had a single blood sample collected. Blood samples were collected  
 153 in a tube without anticoagulant (10 mL) from the coccygeal vein or artery, using a  
 154 vacuum system (Vacuplast<sup>®</sup>, CRAL, Cotia, SP, Brazil). The samples were stored with  
 155 ice, until the centrifugation procedure (10 minutes at 3000 rpm), and the resulting  
 156 serum was stored in eppendorf tubes (in duplicate) and kept under refrigeration at -20  
 157 °C until transportation to the Veterinary Clinical Pathology Laboratory (Federal  
 158 University of Paraná, Curitiba, PR, Brazil) where biochemical analyzes were  
 159 performed. From the values of albumin, cholesterol and bilirubin, the metabolic health  
 160 index (MHI) of postpartum cows was calculated using the following formula (Gallagher  
 161 et al., 2019).

$$\text{MHI} = \frac{\text{Albumina} - \mu\text{Albumin}}{\sigma\text{Albumin}} + \frac{\text{Cholesterol} - \mu\text{Cholesterol}}{\sigma\text{Cholesterol}} - \frac{\text{Bilirubin} - \mu\text{Bilirubin}}{\sigma\text{Bilirubin}}$$

162

163 For MHI calculation, the cows were grouped by the DIM in blood collection. They  
 164 were categorized in week 1 (0 to 7 DIM), 2 (8 to 14 DIM) and 3 (15 to 21 DIM) to  
 165 calculate the mean and SD of cholesterol, albumin and bilirubin that entered in the  
 166 formula. Within each week, cows were categorized as medium (mean week MHI  $\pm$  0.5  
 167 SD), low (<mean week MHI - 0.5 SD) and high (> mean week MHI + 0.5 SD) groups.



168 For the evaluation of the BHB in the postpartum period, blood was collected for  
169 immediate analysis of  $\beta$ -ketones through test strips (Precision Xtra, Abbott  
170 Laboratories, IL, United States) coupled to a measuring device (Optium Xceed, Abbott  
171 Laboratories) from cows between 3 and 14 DIM on the day of the visit, because this  
172 period has a higher incidence of ketosis according to McArt et al. (2012). Urine  
173 samples were collected from at least 10% of the animals in the prepartum group, by  
174 natural urination or perineal massage to assess the urinary pH in a digital pH meter  
175 (pHep®5 HI 98128, HANNA® Instruments, SP, Brazil). Samples of total mixed rations  
176 (TMR) or partial mixed rations (PMR) were collected from the prepartum and  
177 postpartum groups after delivery to the feeding trough. Using a set of sieves (Penn  
178 State Particle Separator, Pennsylvania State University, PA, United States) the particle  
179 size of the prepartum and postpartum diets was evaluated. The BCS of all cows  
180 included in this experiment was evaluated by a single evaluator, on a scale of 1 to 5  
181 points, with intervals of 0.25 (Edmonson et al., 1989).

182

### 183 3.4.3 Laboratory Analysis

184 Determination of BHB and NEFA levels was carried by colorimetric enzymatic  
185 methodology using the RANBUT enzyme kit (Ref.: RB1007; RANDOX Laboratories -  
186 Life Sciences Ltd. Crumlin, UK), and the NEFA kit (Ref.: NEFA FA115; RANDOX  
187 Laboratories) respectively, using the automatic biochemical analyzer (BS-200;  
188 MINDRAY; Shenzhen; China).

189 The other metabolites were evaluated by commercial kits (Bioclin, Belo  
190 Horizonte, MG, Brazil), with albumin (Ref.: K040-3.1), glucose (Ref.: K082-5.1),  
191 bilirubin (Ref.: K107-2.2), cholesterol (Re.: K083-5.1), aspartate aminotransferase  
192 (AST) enzyme (Ref.: K048-6.1), gamma-glutamyltransferase (GGT) range (Ref.:  
193 K080-4.1). For the determination of total calcium, the ARZENAZO III method (Ref.:  
194 K051-3.1) was performed.

195 The TMR and PMR samples were stored, frozen and sent to the Animal  
196 Nutrition Laboratory (ANL) (Federal University of Paraná, Curitiba, PR, Brazil). In the  
197 ANL were analyzed 25 and 27 TMR samples of prepartum and postpartum groups,  
198 respectively. The samples were thawed, weighed (from 300 to 500 g) and pre-dried  
199 in a forced air ventilation oven at 60-65°C until constant weight was obtained, to  
200 determine the partial dry matter content and sequentially ground in Wiley type mill (1  
201 mm). Subsequently, the total dry matter at 105°C, the crude protein (CP) measured by



202 the micro Kjeldahl method (AOAC, 1990, method 984.13), and the ether extracts  
203 (AOAC, 1990, method 996.06) were determined. Samples were dried at 550°C for 3 h  
204 for ash determination, as well as the levels of neutral detergent fiber (NDF) and acid  
205 detergent fiber (ADF) (equipment from Ankom Technology, NY, United States), using  
206  $\alpha$ -amylase for NDF according to Van Soest et al. (1991). The physically effective  
207 neutral detergent fiber (peNDF) was calculated from NDF ration content multiplied by  
208 the proportion of particles retained in the 19 mm and 8 mm sieves.

209 The chemical composition of total mixed rations from prepartum and postpartum  
210 were 42.8 and 48.2% of DM, 6.5 and 7.0% of ash, 13.5 and 15.9% of CP, 3.6 and  
211 4.0% of fat, 41.9 and 34.1% of NDF, 22.6 and 17.3% of ADF, 27.4 and 17.9% of  
212 peNDF, respectively. And the particle size distribution of TMR was 20.9 and 16% in 19  
213 mm sieve, 43.2 and 36.4% in 8 mm sieve, 12.5 and 12.8% in 4 mm sieve, 23.4 and  
214 34.8% in bottom pan, for prepartum and postpartum groups, respectively.

215

### 216 3.4.5 Statistical Analysis

217 Statistical analyzes were performed using the FREQ, MEANS, CORR and GLM  
218 procedures of SAS (SAS, v.9, Institute Inc., Cary, NC).

219 For the PROC GLM analysis procedure, the independent variables were  
220 dichotomized. In prepartum cows the BCS was dichotomized in low ( $BCS \leq 3.50$ ;  $n =$   
221 203 animals) and high ( $BCS > 3.50$ ;  $n = 100$  animals), the lactation order in nulliparous  
222 ( $n = 107$  animals) or parous ( $n = 204$  animals) and BHB in low ( $BHB < 0.6$  mmol/L;  $n$   
223  $= 80$  animals) and high ( $BHB \geq 0.6$  mmol/L;  $n = 230$  animals) (Chapinal et al., 2012).

224 Postpartum cows were categorized for the BCS in low ( $BCS < 3.0$ ;  $n = 60$  cows),  
225 medium ( $BCS \geq 3.0$  and  $\leq 3.5$ ;  $n = 311$  cows) and high ( $BCS > 3.5$ ;  $n = 57$  cows);  
226 lactation order in primiparous ( $n = 167$  cows) or multiparous ( $n = 264$  cows); BHB in  
227 low ( $BHB < 1.2$  mmol/L;  $n = 300$  cows) and high ( $BHB \geq 1.2$  mmol/L;  $n = 47$  cows)  
228 (McArt et al., 2012); NEFA in low ( $NEFA < 0.72$  mmol/L;  $n = 186$  cows) and high ( $NEFA$   
229  $\geq 0.72$  mmol/L;  $n = 89$  cows) (Ospina et al., 2010b); and MHI in low ( $< \text{mean MHI} - 0.5$   
230  $SD$ ;  $n = 108$  cows;  $MHI = -2.832$ ); medium ( $\text{mean MHI} \pm 0.5 SD$ ;  $n = 185$  cows;  $MHI =$   
231  $0.152$ ); and high ( $> \text{mean MHI} + 0.5 SD$ ;  $n = 128$  cows;  $MHI = 2.17$ ). Each parameter  
232 (lactation order, BCS, BHB, NEFA and MHI) was tested in a separate model. Lactation  
233 order was included in all as fixed effect. The dependent variables were metabolites,  
234 accumulated milk yield up to 100 DIM, milk yield, milk fat and protein contents and  
235 FPR in the first test-day.

236 For the results interpretation and discussion, a significant effect was adopted  
237 when  $P \leq 0.05$ , whereas  $0.05 < P < 0.10$  was considered a tendency. For all the  
238 responses variables the means were obtained through the LSMEANS command.

239

## 240 3.5 RESULTS

241

### 242 3.5.1 Blood Metabolites in Prepartum

243 In the prepartum the cholesterol was positively correlated with days before  
244 parturition ( $r = 0.26$ ;  $P < 0.001$ ; Table 1) and negatively with bilirubin ( $r = -0.14$ ;  $P < 0.05$ ).  
245 Cholesterol was positively correlated with albumin ( $r = 0.25$ ;  $P < 0.001$ ) and with glucose  
246 ( $r = 0.17$ ;  $P < 0.05$ ). Albumin was also correlated with calcium ( $r = 0.24$ ;  $P < 0.001$ ).

247 Other findings were that the liver enzymes AST and GGT were positively  
248 correlated ( $r = 0.25$ ;  $P < 0.001$ ). Lactation number was negatively correlated with  
249 glucose ( $r = -0.27$ ;  $P < 0.001$ ) and calcium ( $r = -0.16$ ;  $P < 0.05$ ) (Table 1).

250 Higher BCS cows in prepartum had more milk fat content in the first test-day  
251 ( $P < 0.01$ ) and higher fat:protein ratio ( $P < 0.01$ ). Cows with higher levels of BHB in  
252 prepartum produced less milk in the first test-day ( $P = 0.05$ ) (Table 2).

253

### 254 3.5.2 Blood Metabolites in Postpartum

255 Whereas MHI was negatively correlated with BHB ( $r = -0.36$ ,  $P < 0.001$ ) and  
256 NEFA ( $r = -0.32$ ,  $P < 0.001$ ) (Table 3). Correlations were positive with cholesterol ( $r =$   
257  $0.59$ ,  $P < 0.001$ ) and albumin ( $r = 0.68$ ,  $P < 0.001$ ) and high and negative with bilirubin ( $r$   
258  $= -0.61$ ,  $P < 0.001$ , Table 3). All these high correlations were expected, because all  
259 three metabolites participate in the equation that it gives rise to the index. Days in milk  
260 had positive correlations with albumin ( $r = 0.30$ ,  $P < 0.001$ ), calcium ( $r = 0.39$ ,  $P < 0.001$ )  
261 and cholesterol ( $r = 0.62$ ,  $P < 0.001$ ) (Table 3), as they all increase as the DIM  
262 advances. Bilirubin had positive correlations with BHB ( $r = 0.51$ ,  $P < 0.001$ ), AST ( $r =$   
263  $0.41$ ,  $P < 0.001$ ) and NEFA ( $r = 0.56$ ,  $P < 0.001$ ) (Table 3). Beta-hydroxybutyrate,  
264 indicative of hepatic lipid overload and partial oxidation of fatty acids, showed a positive  
265 correlation with AST ( $r = 0.37$ ,  $P < 0.001$ ) and NEFA ( $r = 0.54$ ,  $P < 0.001$ ) and negative  
266 with glucose ( $r = -0.42$ ,  $P < 0.001$ ) (Table 3).

267 The BCS evaluated in postpartum was negatively correlated with accumulated  
268 milk yield ( $r = -0.22$ ;  $P < 0.001$ ) and milk yield in the first test-day after calving ( $r = -0.16$ ;  
269  $P < 0.05$ ) (Table 4). Glucose levels were negatively correlated with accumulated milk

270 yield ( $r = -0.33$ ;  $P < 0.001$ ) and milk yield in the first test-day ( $r = -0.28$ ;  $P < 0.001$ ) (Table  
271 4).

272 Milk fat content was correlated with BCS ( $r = 0.22$ ;  $P < 0.001$ ) and BHB ( $r = 0.23$ ;  
273  $P < 0.001$ ) (Table 4). Milk protein content was correlated with NEFA ( $r = -0.23$ ;  $P < 0.001$ )  
274 (Table 4). Finally, FPR was positively correlated with bilirubin ( $r = 0.24$ ;  $P < 0.001$ ), BHB  
275 ( $r = 0.29$ ;  $P < 0.001$ ), AST ( $r = 0.21$ ;  $P < 0.001$ ) and NEFA ( $r = 0.21$ ;  $P < 0.001$ ).

276 The metabolite health index was lower in cows with lower BCS, higher NEFA  
277 and higher BHB ( $P < 0.01$ ) (Table 5). Cows in the low MHI group had higher AST (104.3  
278 U/L;  $P < 0.01$ ), lower cholesterol (66.1 mg/dL;  $P < 0.01$ ) and lower albumin (2.72 g/dL;  
279  $P < 0.01$ ) compared to the medium and high MHI groups (Table 5). It was observed  
280 differences ( $P < 0.01$ ) in milk yield at the first test-day (39.1 and 37.9 vs. 35.2 kg) for  
281 medium, high and low groups, but there were no differences in accumulated milk up  
282 to 30 and 100 DIM, and milk fat content among MHI classes. And it was observed  
283 lower milk protein content (3.1 vs. 3.21 and 3.26%) for low, medium and high MHI, so  
284 these last two groups had lower FPR (1.18 and 1.19 vs. 1.26) than the high MHI (Table  
285 6).

286 Milk fat content was higher in hyperketonemic cows (4.21 vs. 3.87%;  $P = 0.01$ )  
287 than low BHB group and higher in high NEFA group (4.01 vs. 3.79%;  $P = 0.05$ ) than low  
288 NEFA group. FPR was higher in cows with high-NEFA (1.3 vs. 1.19;  $P < 0.01$ ) and  
289 higher in hyperketonemic cows (1.44 vs. 3.79;  $P < 0.01$ ) (Table 6).

290

### 291 3.6 DISCUSSION

292

293 The results above showed an interaction between days relative to calving and  
294 the concentration of some metabolites. This was expected, because endocrine and  
295 metabolic changes have been reported in the transition period of dairy cows and the  
296 dry matter intake has a strong impact on the metabolism of the periparturient cow. We  
297 observed that cholesterol decreased with the proximity of calving and it increased with  
298 DIM progress, corroborating with the literature (Ruprechter et al., 2018; Weber et al.,  
299 2013; Zhou et al., 2016). Changes dependent on dry matter intake, which also tends  
300 to increase with DIM.

301 Calcium levels during periparturient period are also dependent on dry matter  
302 intake (Chapinal et al., 2012). Cui et al. (2019) observed that comparatively with -7 d,  
303 the calcium concentrations in healthy cows decreased ( $P < 0.05$ ) at 0 d. Calcium has

304 minimal levels around calving, with nadir occurring between 12 and 36 hours after  
305 calving, where approximately 25% of primiparous and 50% of multiparous have  
306 calcium levels below 8 mg/dL (Goff, 2008). This is in agreement with our data on  
307 correlations of the prepartum and postpartum groups, where calcium was negatively  
308 correlated with lactation number, suggesting that multiparous have lower levels of  
309 serum calcium than first-lactation animals.

310 As for glucose, the increases at parturition and its reduction after calving has  
311 been well-documented in healthy cows. The increase is justified due to an increase in  
312 glucagon and glucocorticoids at calving, which depress the stored liver glycogen  
313 (NRC, 2001). The decrease of glucose concentrations a few weeks after calving may  
314 be interpreted mainly as the consequence of the high demand for lactose synthesis  
315 (Blum et al., 1983). This corroborates our findings of a negative correlation between  
316 glucose concentration and lactation number, suggesting higher serum glucose values  
317 in primiparous. They demand less glucose for the mammary gland, because they  
318 produce less milk yield, consequently the circulating glucose levels are higher related  
319 to multiparous.

320 NRC (2001) reports increased NEFA concentrations in the prepartum period,  
321 and the extent of circulating NEFA depends on dietary energy levels. Greater  
322 mobilization of fatty acids implies more NEFA entering the liver and increases the  
323 chances of fatty liver. According to Kaneko et al. (2008) the AST sensitivity for fatty  
324 liver in ruminants is 94%, being a mitochondrial enzyme of hepatocytes that is released  
325 in liver damage and is correlated with reduced hepatic function (Steen et al., 1997). In  
326 fact, we have observed a positive correlation between liver injury indicators such as  
327 bilirubin and AST with postpartum energy metabolism intermediates (BHB and AGNE).  
328 Seifi et al. (2007) also found correlation between AST with NEFA and BHB.  
329 Furthermore, we can state that lipomobilization negatively affects the liver, because  
330 we found a negative correlation between MHI and the NEFA and BHB metabolites.  
331 Roche et al. (2013) reviewed that the accumulation of triglycerides in bovine  
332 hepatocytes occurs when there are excess of NEFA entering the liver, and  
333 accumulation decreases gluconeogenesis and ureagenesis activities, affects  
334 numerous liver pathways, reduces the expression of genes and proteins associated  
335 with cholesterol synthesis and ATP production.

336 For the assessment of liver functionality, we calculated the MHI, and  
337 categorized the postpartum cows into low, medium and high MHI. However, observing

338 variation in the metabolites albumin, bilirubin and cholesterol according to the  
339 collection date, we corrected the DIM factor by calculating the MHI of the cows in the  
340 first, second and third weeks. We observed higher milk yield in the first test-day for  
341 cows with high MHI. Findings in productive performance are frequent in studies that  
342 have assessed liver function index, such as Zhou et al. (2016). They found that cows  
343 with higher liver function produced more milk between 14 and 28 days after calving,  
344 and Gallagher et al. (2019) found that the increase of one unit in MHI resulted in a daily  
345 increase of 0.88 kg of milk until the 4th week of lactation.

346 As for the BCS assessment, it is useful in detecting the magnitude of the  
347 negative energy balance. For cows categorized in prepartum by BCS below the  
348 median, at the median and above the median, McArt et al. (2013) found in this last  
349 group, of fat cows, the highest proportion of subclinical ketosis (58.6%). The authors  
350 point out that high BCS at calving is associated with a greater negative energy balance,  
351 which increases the risk of diseases in the peripartum, such as hyperketonemia. In  
352 addition, in this work it was found that fatter cows were more likely (1.2 x) to develop  
353 postpartum hyperketonemia (BHB > 1.2 mmol/L).

354 In our study we do not have the postpartum metabolic profile of the prepartum  
355 animals, but cows with BCS above 3.5 in the prepartum period had a higher milk fat  
356 content and a higher fat:protein ratio in the first test-day, indicating lipomobilization.  
357 Cows with high BCS have less ability to increase dry matter intake than cows with  
358 moderate BCS, according to the review of Overton and Waldron (2004).

359 In addition, Chebel et al. (2018) reported the determining factor for BCS  
360 changes during the dry period. It is BCS of the animal's entry into the dry period, as  
361 dairy cows appear to be programmed to converge the BCS to 3.25 to 3.5 at calving. In  
362 their study, the group with the highest BCS average (4.08) at the start of the dry period,  
363 it was the one that had the greatest change, with BCS loss of 0.89 points until calving.  
364 The authors said that high BCS group could have a greater negative energy balance,  
365 impaired immune responses during the peripartum, and be more predisposed to  
366 uterine disorders.

367 High concentrations of BHB ( $\geq 0.6$  mmol/L) in the week before calving were  
368 associated with lower milk yield in the first 4 test-day (-1.7 kg/d) according to the study  
369 of Chapinal et al. (2012). In our study, we observed lower milk yield in the first test-day  
370 for high BHB cows.

371 In the same way, cows in the postpartum with high BHB or high NEFA had a  
372 higher milk fat content, and higher FPR in the first test-day. Bastin et al. (2011) stated  
373 that the milk fatty acid profile was modified at the beginning of lactation, when the cows  
374 were in negative energy balance. Because there is mobilization of adipose tissue, a  
375 higher proportion of preformed fatty acids is incorporated into milk, such as C18:1  
376 (oleic acid) (Poncheki et al., 2019). In the study by Mantysaari et al. (2019), cows in  
377 early lactation had the milk fat content and the FPR correlated with NEFA ( $r=0.47$  and  
378  $r=0.41$ ,  $P<0.01$ ), respectively. While the sum of long-chain fatty acids had a moderate  
379 to high correlation with circulating NEFA.

380 Furthermore, the FPR above 1.5 could be associated with a higher risk of fatty  
381 liver and displacement of the abomasum and it has been shown to be indicative of  
382 energy deficiency (Heuer et al., 1999).

383 In the study by Toni et al. (2011), primiparous with FPR greater than 1.5 but  
384 less than 3 had a significantly higher milk production compared with those with an FPR  
385 of 1 to 1.5. The increase in production was approximately 0.8 kg/d. And multiparous  
386 with FPR  $>2.5$  produced less 2.0 kg compared to cows of FPR between 1 and 1.5. In  
387 the present study, FPR was measured later (5 to 45 DIM) than in the study by Toni et  
388 al (2011) (approximately to the 7 DIM), so we did not get averages greater than 1.5  
389 FPR. But we found the highest FPR (1.44) in high BHB cows and these cows produced  
390 more milk than the low BHB group.

391 In addition, the results of Chapinal et al. (2012) showed high BHB and NEFA  
392 postpartum levels associated with milk yield loss at the beginning of lactation, but not  
393 necessarily during the entire lactation period. The authors found the NEFA and BHB  
394 thresholds at 1 and 2 weeks after calving, most associated with decreased milk yield.  
395 They were  $\geq 0.7$  (first week) and  $\geq 1.0$  mmol/L (second week) for NEFA, representing  
396 loss of 1.8 and 1.7 kg/d, respectively. And for BHB  $\geq 1.4$  (first week) and  $\geq 1.2$  mmol/L  
397 (second week) losses of 2.4 and 1.5 kg/d, respectively, but milk decrease until the first  
398 test-day. The results support the hypothesis that cows with greater productive potential  
399 have a higher risk of ketosis if their greater metabolic, nutritional or management  
400 demands are not provided.

401 Lower NEFA and BHBA concentrations in weeks 1, 2, and 3 after calving were  
402 associated with milk loss through the first 4 test-day, showing that a moderate degree  
403 of fat mobilization in early lactation may be critical to obtain high milk yields.  
404 Nevertheless, excessive magnitude or rate of mobilization of fat reserves will cause



405 suboptimal metabolic performance and is likely an indicator of a reduced adaptive  
406 response to negative energy balance (Chapinal et al., 2012). The postpartum cows in  
407 our study with BHB  $\geq$  1.2 mmol/L had the highest accumulated production at 100 DIM,  
408 and not in the first milk control, which corroborates the findings of Chapinal et al.  
409 (2012).

410       Regarding metabolic disorders, we did not do this investigation in our study, as  
411 it would depend on the farm employees, and the diagnosis of diseases was different  
412 among herds. But in the survey by Ospina et al. (2010a) NEFA levels above 0.57  
413 mmol/L or BHB above 0.96 mmol/L in the postpartum period were associated with  
414 greater chances of developing any of these diseases: displaced abomasum, clinical  
415 ketosis, metritis or placenta retention during 30 DIM. And the levels defined for the  
416 prediction of disorders were lower than those used for the prediction of reproductive  
417 and productive performance. Regarding productive and reproductive performance in  
418 other work by Ospina et al. (2010b), it was observed that cows with levels greater than  
419 0.72 mmol/L of NEFA, had 16% less chance of pregnancy, and multiparous decreased  
420 by 647 kg the mature-equivalent 305d milk yield, while BHB greater than 0.96 mmol/L  
421 decreased by 13% chance of pregnancy. With the exception of milk production in  
422 heifers, this study indicates that increased concentrations of serum NEFA and BHBA  
423 had a detrimental effect on reproductive performance and milk production.

424

### 425 3.7 CONCLUSION

426

427       The calculated MHI has the advantage to demand a single blood collection, and  
428 cows with high MHI had better metabolic profile. The index was a good predictor of  
429 productive performance in the present study. On the other hand, intermediate  
430 metabolites of energy metabolism, such as BHB and NEFA were associated with  
431 indicators of liver injury, such as bilirubin and AST. In addition, high levels of these  
432 metabolites or elevated BCS according to the pre-determined thresholds resulted in  
433 an increase in fat:protein ratio in the first test-day after calving.

434

### 435 ACKNOWLEDGEMENTS

436       The authors wish to express their appreciation for the financial support provided  
437 by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) as a  
438 scholarship, and the cooperatives Capal Cooperativa Agroindustrial (Arapoti-PR),

439 Frísia Cooperativa Agroindustrial (Carambeí-PR) and Castrolanda Cooperativa  
 440 Agroindustrial (Castro-PR) for the partnership in contacting their producers to  
 441 participate in this study.

442

443 **REFERENCES**

444 Bastin, C., Gengler, N., Soyeurt, H. 2011 Phenotypic and genetic variability of  
 445 production traits and milk fatty acid contents across days in milk for Walloon  
 446 Holstein first-parity cows. *J. Dairy Sci.* 94:4152-4163.  
 447 <https://doi.org/10.3168/jds.2010-4108>

448 Bionaz, M., Trevisi, E., Calamari, L., Librandi, F., Ferrari, A., Bertoni, G. 2007. Plasma  
 449 paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy  
 450 cows. *J. Dairy Sci.* 90:1740-1750. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-445>

451 Blum, J. W., Kunz, P., Leuenberger, H., Gautschi, K., Keller, M. 1983. Thyroid  
 452 hormones, blood plasma metabolites and haematological parameters in  
 453 relationship to milk yield in dairy cows. *Animal*  
 454 *Science.* <https://doi.org/10.1017/S0003356100039982>

455 Chapinal, N., Carson, M. E., LeBlanc, S. J., Leslie, K. E., Godden, S., Capel, M.,  
 456 Santos, J. E. P. 2012. The association of serum metabolites in the transition period  
 457 with milk production and early-lactation reproductive performance. *J. Dairy Sci.*  
 458 95:1301-1309. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4724>

459 Chebel, R. C., Mendonça, L. G. D., Baruselli, P. S. 2018. Association between body  
 460 condition score change during the dry period and postpartum health and  
 461 performance. *J. Dairy Sci.* 101:4595-4614. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13732>

463 Cui, L., Wang, H., Ding, Y., Li, J., Li, J. 2019. Changes in the blood routine,  
 464 biochemical indexes and the pro-inflammatory cytokine expressions of peripheral  
 465 leukocytes in postpartum dairy cows with metritis. *BMC Vet. Res.* 15:157.  
 466 <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1912-y>.

467 Drackley, J. K. 1999. Biology of dairy cows during the transition period: the final  
 468 frontier? *J. Dairy Sci.* 82:2259-2273. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75474-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75474-3)

470 Edmonson, A. J., Lean, I. J., Weaver, L. D., Farver, T., Webster, G. 1989. A body  
 471 condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72:68-78.  
 472 [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79081-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79081-0)

473 Gallagher, K. R. Kerwin, A. L., Tikofsky, J. N., Mccarthy, M. M., Overton, T. R. 2019.  
 474 Rumen-protected methionine supplementation during early lactation and  
 475 associations with plasma amino acid, metabolite concentrations and a novel  
 476 metabolite health index. *J. Dairy Sci.* 102(1):21.  
 477 <https://m.adsa.org/2019/abs/t/78575>

478 Goff, J. P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical  
 479 hypocalcemia in dairy cows. 2008. *Vet J.* 176:50–57.  
 480 <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.020>

481 Hayirli, A., Bertics, S. J., Grummer, R. R. 2002. Effects of slow release insulin on  
 482 production, liver triglyceride and metabolic profiles of Holsteins in early lactation.  
 483 *J. Dairy Sci.* 85:2180–2191. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74297-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74297-5)

484 Heuer, C., Schukken, Y. H., Dobbelaar, P. 1998. Postpartum body condition score  
 485 and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and



- 486 culling in commercial dairy herds. *J. Dairy Sci.* 82:295–304.  
487 [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75236-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75236-7)
- 488 Husnain, A., Santos, J. E. P. 2019. Meta-analysis of the effects of prepartum dietary  
489 protein on performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 102:9791-9813.  
490 <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16043>
- 491 Kaneko, J. J., Harvey, J. W., Bruss, M. L. 2008. *Clinical biochemistry of domestic*  
492 *animals*. 6.ed. San Diego: Elsevier Academic Press.
- 493 Mäntysaari, P., Mäntysaari, E. A., Kokkonen, T., Mehtiö, T., Kajava, S., Grelet, C.,  
494 Lidauer, P., Lidauer, M. H. 2019. Body and milk traits as indicators of dairy cow  
495 energy status in early lactation. *J. Dairy Sci.* 102:7904-7916.  
496 <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15792>
- 497 Mcart, J. A. A., Nydam, D. V., Oetzel, G. R. 2012. Epidemiology of subclinical ketosis  
498 in early lactation dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 95:5056-5066.  
499 <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5443>
- 500 McArt, J. A. A., Nydam, D. V., Oetzel, G. R. 2013. Dry period and parturient predictors  
501 of early lactation hyperketonemia in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 96:198-209.  
502 <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5681>
- 503 Nutrient requirements of dairy cattle. 7.ed. Washington: National Research Council,  
504 2001, 356p.
- 505 Ospina, P. A., Nydam, D. V., Stokol, T., Overton, T. R. 2010a. Evaluation of  
506 nonesterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the  
507 northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases.  
508 *J. Dairy Sci.* 93:546-554. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2277>
- 509 Ospina, P. A., Nydam, D. V., Stokol, T., Overton, T. R. 2010b. Associations of elevated  
510 nonesterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate concentrations with early lactation  
511 reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the  
512 northeastern United States. *J. Dairy Sci.* 93:1596-  
513 1603. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2852>
- 514 Overton, T. R., Waldron, M. R. 2004. Nutritional management of transition dairy cows:  
515 strategies to optimize metabolic health. *J. Dairy Sci.* 87:105-119.  
516 [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)70066-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70066-1)
- 517 Poncheki, J. K., Horst, J. A., Santos, G. T., Lanna, D. P. D., Almeida, R. 2019. Perfil  
518 de ácidos graxos do leite no início da lactação: efeitos sobre produção,  
519 reprodução e sanidade. In: VIII Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite,  
520 Lages, SC, BR.
- 521 Rabelo, E., Campos, B. G. 2009. Fisiologia do período de transição. In: Congresso  
522 Brasileiro de Buiatria. Belo Horizonte, MG, BR.
- 523 Roche, J. R., Bell, A. W., Overton, T. R., Loor, J. J. 2013. Nutritional management of  
524 the transition cow in the 21<sup>st</sup> century – a paradigm shift in thinking. *Anim. Prod.*  
525 *Sci.* 53:1000-1023. <http://dx.doi.org/10.1071/AN12293>
- 526 Roche, J. R., Friggens, N. C., Kay, J. K., Fisher, M. W., Stafford, K. J., Berry, D. P.  
527 2009. Invited review: body condition score and its association with dairy cow  
528 productivity, health, and welfare. *J. Dairy Sci.* 92:5769-5801.  
529 <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2431>
- 530 Ruprechter, G., Adrien, M. L., Larriestra, A., Meotti, O., Batista, C., Meikle, A., Noro  
531 M. 2018. Metabolic predictors of peri-partum diseases and their association with  
532 parity in dairy cows. *Res. Vet. Sci.* 118:191-198.  
533 <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.02.005>
- 534 Steen A., Gronstol, H., Torjesen, P. A. 1997. Glucose and insulin responses to  
535 glucagons injection in dairy cows with ketosis and fatty liver. *Zentralbl*

- 536 Veterinarmed A. 44:521–530. <https://doi.org/10.1111/j.1439->  
537 [0442.1997.tb01138.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1997.tb01138.x)
- 538 Toni, F., Vincenti, L., Grigoletto, L., Ricci, A., Schukken, Y. H. 2011. Early lactation  
539 ratio of fat and protein percentage in milk is associated with health, milk  
540 production, and survival. *J. Dairy Sci.* 94:1772-1783.  
541 <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3389>
- 542 Trevisi, E., Amadori, M., Cogrossi, S., Razzuoli, E., Bertoni, G. 2012. Metabolic stress  
543 and inflammatory response in high-yielding periparturient dairy cows. *Res. Vet.*  
544 *Sci.* 93:695–704. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.11.008>
- 545 Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral  
546 detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J.*  
547 *Dairy Sci.* 74:3583-3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- 548 Weber, C., Hametner, C., Tuchscherer, A., Losand, B., Kanitz, E., Otten, W., Singh,  
549 S. P., Bruckmaier, R. M., Becker, F., Kanitz, W., Hammon, H. M. 2013. Variation  
550 in fat mobilization during early lactation differently affects feed intake, body  
551 condition, and lipid and glucose metabolism in high-yielding dairy cows. *J. Dairy*  
552 *Sci.* 96:165-180. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5574>
- 553 Weber, C., Schaff, C. T., Kautzsch, U., Borner, S., Erdmann, S., Gors, S., Rontgen,  
554 M., Sauerwein, H., Bruckmaier, R. M., Metges, C.C., Kuhla, B., Hammon, H. M.  
555 2016. Insulin-dependent glucose metabolism in dairy cows with variable fat  
556 mobilization around calving. *J. Dairy Sci.* 99:1-  
557 15. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11022>
- 558 Zhou, Z., Looor, J. J., Piccioli-Cappelli, F., Librandi, F., Loblely, G. E., Trevisi, E. 2016.  
559 Circulating amino acids during the peripartal period in cows with different liver  
560 functionality index. *J. Dairy Sci.* 99: 1-11. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9805>

561 TABLE 1 – Pearson's correlation between metabolic variables measured in prepartum cows from dairy farms in the Campos Gerais,  
 562 Paraná.

Parameters <sup>1</sup>	BCS	Urinary pH	GGT	AST	Cholesterol	Glucose	Albumin	Calcium	Bilirubin	BHB	Lac. Number	DBC
BCS	1											
Urinary pH		1										
GGT			1									
AST				1								
Cholesterol					1							
Glucose						1						
Albumin							1					
Calcium								1				
Bilirubin									1			
BHB										1		
Lac. Number											1	
DBC												1

563 <sup>1</sup> BCS= body condition score; GGT= gamma-glutamyl transferase; AST= aspartate aminotransferase; BHB=  $\beta$ - hydroxybutyrate; DBC= days  
 564 before calving; Lac. Number= lactation number.

565 \*P < 0.05; \*\*P < 0.001

566 TABLE 2 – Lactation number, BCS and BHB in prepartum cows, and the effects on postpartum productive parameters.

	Lactation Number <sup>1</sup>		BCS <sup>2</sup>		BHB <sup>3</sup>		P - value		
	N	P	L	H	L	H	Lactation Number	BCS	BHB
Accumulated milk <sup>4</sup> , kg	3461	4626	3996	4119	4191	3992	<0.01	0.30	0.16
Milk yield <sup>5</sup> , kg	30.6	44.6	37.4	37.8	39.9	36.8	<0.01	0.76	0.05
%Fat <sup>5</sup>	4.09	3.87	3.88	4.16	4.00	3.97	0.02	<0.01	0.78
%Protein <sup>5</sup>	3.2	3.16	3.21	3.13	3.15	3.19	0.43	0.10	0.41
F:P ratio <sup>6</sup>	1.28	1.22	1.21	1.32	1.28	1.24	0.04	<0.01	0.31

567 <sup>1</sup> Lactation number involves nulliparous (N) (n = 107 cows) and parous (P) (n = 204 cows).

568 <sup>2</sup> Body condition score (BCS) was classified in low (L), which are cows with a BCS  $\leq$  3.5 (n = 203 cows) and high (H), which are  
569 cows with BCS > 3.5 (n = 100 cows).

570 <sup>3</sup>  $\beta$ -hydroxybutyrate (BHB) was classified in low (L) levels, BHB < 0.6 mmol/L, (n = 80 cows); and high (H) levels, BHB  $\geq$  0.6  
571 mmol/L, (n = 230 cows).

572 <sup>4</sup> Milk yield up to 100 DIM.

573 <sup>5</sup> Milk yield, fat and protein contents in the first test-day.

574 <sup>6</sup> Fat and protein contents from the first test-day, when it performed between 5 and 45 DIM.

575 TABLE 3 – Pearson's correlation between metabolic variables measured in postpartum cows from dairy farms in the Campos Gerais,  
 576 Paraná.

Parameters <sup>1</sup>	MHI	BCS	Cholesterol	Bilirubin	Albumin	BHB	GGT	AST	Glucose	Calcium	NEFA	Lactation number	DIM
MHI	1	0.11*	0.59**	-0.61**	0.68**	-0.36**	-0.01	-0.33**	0.12*	0.48**	-0.32**	-0.12*	0.07
BCS		1	-0.02	0.03	0.12*	0.04	-0.09	-0.03	0.16*	0.01	0.1	-0.18**	-0.13*
Cholesterol			1	-0.3**	0.48**	-0.2**	0.21**	-0.17**	-0.004	0.48**	-0.1	-0.09	0.62**
Bilirubin				1	-0.25**	0.51**	0.02	0.41**	-0.1*	-0.39**	0.56**	0.17*	-0.17**
Albumin					1	-0.14*	0.03	-0.14*	-0.01	0.46**	-0.05	0.03	0.3**
BHB						1	0.03	0.37**	-0.42**	-0.31**	0.54**	0.07	-0.14*
GGT							1	0.25**	0.03	0.05	0.16*	0.002	0.25**
AST								1	-0.04	-0.18**	0.37**	0.13*	-0.05
Glucose									1	0.09	-0.04	-0.23**	-0.12*
Calcium										1	-0.28**	-0.2**	0.39**
NEFA											1	0.19*	0.07
Lactation number												1	0.02
DIM													1

577 <sup>1</sup> MHI= metabolite health index; BCS= body condition score; BHB=  $\beta$ - hydroxybutyrate; GGT= gamma-glutamyl transferase; AST=  
 578 aspartate aminotransferase; NEFA= non-esterified fatty acids; DIM= days in milk.

579 \*P < 0.05; \*\*P < 0.001

580 TABLE 4 - Pearson's correlation between metabolic variables measured in postpartum (0 to 21 DIM) cows and productive parameters  
 581 from dairy farms in the Campos Gerais, Paraná.

	Parameters <sup>1</sup>											
	MHI	BCS	Cholesterol	Bilirubin	Albumin	BHB	GGT	AST	Glucose	Calcium	NEFA	Lactation number
Accumulated milk <sup>2</sup> , kg	0.11*	-0.22**	0.04	-0.07	0.17*	-0.02	-0.13*	-0.01	-0.33**	-0.08	0.07	0.44**
Milk yield <sup>3</sup> , kg	0.16*	-0.16*	0.02	-0.1*	0.21**	-0.06	-0.12*	-0.03	-0.28**	0.004	0.04	0.46**
% Fat <sup>3</sup>	-0.06	0.22**	-0.03	0.15*	0.03	0.23**	0.09	0.15*	-0.06	-0.08	0.09	-0.003
% Protein <sup>3</sup>	0.14*	0.05	0.15*	-0.15*	0.1	-0.1	0.08	-0.09	0.07	0.09	-0.23**	-0.07
Fat:protein ratio <sup>4</sup>	-0.15*	0.2**	-0.12*	0.24**	-0.08	0.29**	0.05	0.21**	-0.1*	-0.14*	0.21**	0.04

582 <sup>1</sup> MHI= metabolite health index; BCS= body condition score; BHB=  $\beta$ - hydroxybutyrate; GGT= gamma-glutamyl transferase; AST=

583 aspartate aminotransferase; NEFA= non-esterified fatty acids.

584 <sup>2</sup> Milk yield up to 100 DIM.

585 <sup>3</sup> First test-day milk yield.

586 <sup>4</sup> Fat and protein contents from the first test-day, when it performed between 5 and 45 DIM.

587 \*P < 0.05; \*\* P < 0.001

TABLE 5 – Effects of lactation number, BCS, NEFA, BHB and MHI levels measured in the postpartum (0 to 21 DIM), on metabolic parameters of dairy cows.

	Lactation Number <sup>1</sup>										P-value						
	P		M		L		M		H		MHI <sup>5</sup>		Lactation Number	BCS	NEFA	BHB	MHI
	P	M	L	M	H	M	L	H	M	L	H						
BHB	0.76	0.85	0.75	0.81	0.86	0.72	1.2						0.1	0.67	<0.01		<0.01
NEFA	0.62	0.63	0.57	0.63	0.66			0.57	1.07				0.82	0.75			<0.01
GGT <sup>6</sup>	26.6	26.8	29.7a	26.4b	25.7b	25.2	27.1	26.5	27.8	27.6			0.79	<0.01	0.05		0.23
AST <sup>7</sup>	89.3	92.2	96.1	89.9	90.1	86.1	108.1	87.1	114	84.3b			0.35	0.39	<0.01		<0.01
Chol. <sup>8</sup>	79.2	79.4	69.8b	81.1a	78a	73	66.6	79.8	69.6	102.1a			0.93	<0.01	<0.01		<0.01
Glucose	64.4	56.7	60	60.7	60.3	61	59.2	61.3	51.6	62a			<0.01	0.84	0.17		<0.01
Albumin	2.99	3.07	2.72b	3.08a	3.07a	2.98	2.9	3.05	2.91	3.33a			0.01	<0.01	0.08		<0.01
Calcium	9.6	9.4	9.2b	9.6a	9.5a	9.4	9	9.6	9	10.1a			0.05	<0.01	<0.01		<0.01
Bilirubin	0.2	0.22	0.25	0.2	0.24	0.16	0.39	0.17	0.47	0.11b			0.39	0.07	<0.01		<0.01
MHI	-0.045	-0.05	-1.487b	0.252a	-0.313a	0.344	-1.165	0.262	-2.057				0.98	<0.01	<0.01		<0.01

<sup>1</sup> Lactation number involves primiparous (P) (n = 167 cows) and multiparous (M) (n = 264 cows).

<sup>2</sup> Body condition score (BCS) was classified in low (L), which are cows with a BCS < 3 (n = 60 cows); medium, which are cows with BCS ≥ 3 and ≤ 3.5 (n = 311 cows); and high (H), which are the cows with BCS > 3.5 (n = 57 cows).

<sup>3</sup> Non-esterified fatty acids (NEFA) were classified in low (L) levels, NEFA < 0.72 mmol/L (n = 186 cows); and high (H) levels, NEFA ≥ 0.72 mmol/L (n = 89 cows).

<sup>4</sup> β-hydroxybutyrate (BHB) was classified in low (L) levels, BHB < 1.2 mmol/L (n = 300 cows); and high (H) levels, BHB ≥ 1.2 mmol/L (n = 47 cows).

<sup>5</sup> Metabolite health index (MHI) was classified in low (L) levels (< mean MHI – 0.5 SD; n = 108 cows; MHI = -2.832); medium (M) levels (mean MHI ± 0.5 SD; n = 185 cows; MHI = 0.152); and high (H) levels (> mean MHI + 0.5 SD; n = 128 cows; MHI = 2.17).

<sup>6</sup> Gamma glutamyltransferase.

<sup>7</sup> Aspartate aminotransferase.

<sup>8</sup> Cholesterol.

588

589

590

591

592

593

594

595

596

597

598

599

600

601



602 TABLE 6 – Effects of lactation number, BCS, NEFA, BHB and MHI levels measured in the postpartum (0 to 21 DIM), on productive  
 603 parameters of dairy cows.

	Lactation Number <sup>1</sup>		BCS <sup>2</sup>			NEFA <sup>3</sup>			BHB <sup>4</sup>			MHI <sup>5</sup>			P - value			
	P	M	L	M	H	L	H	L	H	L	H	L	M	H	Lactation Number	BCS	NEFA	BHB
Accumulated milk <sup>6</sup> , kg	3476	4514	3853	4048	3837	3947	4099	3964	4222	3911	4098	3981	<0.01	0.08	0.19	0.04	0.13	
Milk yield <sup>7</sup> , kg	31.7	43.6	34.7b	38.4a	36a	37.1	38.9	37.6	37.7	35.2b	39.1a	37.9a	<0.01	0.02	0.19	0.94	<0.01	
%Fat <sup>7</sup>	3.79	3.94	3.72	3.85	4.1	3.79	4.01	3.87	4.21	3.88	3.76	3.87	0.06	0.06	0.05	0.01	0.31	
%Protein <sup>7</sup>	3.19	3.21	3.21	3.19	3.22	3.2	3.09	3.23	3.01	3.1b	3.21a	3.26a	0.58	0.91	0.01	<0.01	<0.01	
F:P ratio <sup>8</sup>	1.2	1.24	1.17b	1.21b	1.3a	1.19	1.3	1.21	1.44	1.26a	1.18b	1.19b	0.13	0.05	<0.01	<0.01	0.03	

604 <sup>1</sup> Lactation number involves primiparous (P) (n = 167 cows) and multiparous (M) (n = 264 cows).

605 <sup>2</sup> Body condition score (BCS) was classified in low (L), which are cows with a BCS < 3 (n = 60 cows); medium, which are cows with  
 606 BCS ≥ 3 and ≤ 3.5 (n = 311 cows); and high (H), which are the cows with BCS > 3.5 (n = 57 cows).

607 <sup>3</sup> Non-esterified fatty acids (NEFA) were classified in low (L) levels, NEFA < 0.72 mmol/L (n = 186 cows); and high (H) levels, NEFA  
 608 ≥ 0.72 mmol/L (n = 89 cows).

609 <sup>4</sup> β-hydroxybutyrate (BHB) was classified in low (L) levels, BHB < 1.2 mmol/L (n = 300 cows); and high (H) levels, BHB ≥ 1.2  
 610 mmol/L (n = 47 cows).

611 <sup>5</sup> Metabolite health index (MHI) was classified in low (L) levels (< mean MHI – 0.5 SD; n = 108 cows; MHI = -2.832); medium (M)  
 612 levels (mean MHI ± 0.5 SD; n = 185 cows; MHI = 0.152); and high (H) levels (> mean MHI + 0.5 SD; n = 128 cows; MHI = 2.17).

613 <sup>6</sup> Milk yield up to 100 DIM.

614 <sup>7</sup> Milk yield, fat and protein contents in the first test-day.

615 <sup>8</sup> Milk fat and protein contents from the first test-day, when it performed between 5 and 45 DIM.

## 4 CAPÍTULO II – ARTIGO: ÍNDICES PRODUTIVOS E ESTRATÉGIAS DE MANEJO, ALIMENTARES E INSTALAÇÕES PARA VACAS EM PERÍODO DE TRANSIÇÃO DE REBANHOS LEITEIROS ESPECIALIZADOS DA REGIÃO DOS CAMPOS GERAIS, PARANÁ

### 4.1 RESUMO

O objetivo deste estudo foi investigar as estratégias adotadas para vacas em período de transição de 30 rebanhos leiteiros comerciais da região dos Campos Gerais do Paraná. Foi realizado um questionário presencial nas fazendas. No questionário foram abordados: índices produtivos e composição do leite, ordenhas diárias, instalações e limpeza, ventilação e aspersão, manejos de lotes, estratégias de alimentação, uso de aditivos, reprodução, uso de somatotropina bovina (bST), uso de antibiótico e selante intramamário na secagem. Sobre o período de transição foi investigado sobre lote específico para vacas de pré-parto e pós-parto, separação de primíparas e multíparas, baixa maternidade, protocolos sanitários e preventivos. Os rebanhos totalizaram 12.033 vacas, sendo 10.460 vacas em lactação. A produção média foi de  $35,6 \pm 6,7$  L leite vaca dia<sup>-1</sup>. Dos rebanhos avaliados 93,3% tinham lote específico para alocar as vacas pré-parto, sendo em 51,7% dos casos o sistema *compost barn* ou cama sobreposta. Em relação as instalações de vacas pós-parto, em 70% das fazendas era sistema *free-stall*. A produtividade média diária por vaca em cada fazenda foi correlacionada negativamente com porcentagem de gordura ( $r = -0,61$ ) e proteína ( $r = -0,49$ ) no leite, e correlacionada positivamente com número de ordenhas e com a porcentagem do rebanho em bST.

PALAVRAS-CHAVE: aditivos alimentares; *free-stall*; manejo alimentar; pós-parto; pré-parto

1 “Escrito usando as normas da Revista Brasileira de Medicina Veterinária e  
2 Zootecnia”.

3 Índices produtivos e estratégias de manejo, alimentares e instalações para  
4 vacas em período de transição de rebanhos leiteiros especializados da região  
5 dos Campos Gerais, Paraná

6 Productive indices and management, feedstuffs and facilities strategies for dairy  
7 cows in the transition period of specialized dairy herds in the Campos Gerais,  
8 Paraná

9

#### 10 4.2 ABSTRACT

11

12 The objective of this study was to investigate the strategies adopted for cows in  
13 transition period of 30 commercial herds in the Campos Gerais region of Paraná  
14 State, Southern Brazil. A face-to-face questionnaire was carried out on the farms.  
15 The questionnaire covered: production indexes and milk composition, daily  
16 milking, installations and cleaning, ventilation and spraying, batch management,  
17 feeding strategies, use of additives, reproduction, use of bovine somatotropin  
18 (bST), use of antibiotics and sealant intramammary drying. About the transition  
19 period, a specific lot was investigated for prepartum and postpartum cows,  
20 separation of primiparous and multiparous cows, maternity pen, sanitary and  
21 preventive protocols. The herds had an adult herd of altogether 12,033 cows, and  
22 of these 10,460 were lactating ones. The average production was  $35.6 \pm 6.7$  L of  
23 milk per cow. Of the herds evaluated, 93.3% had a specific group to allocate the  
24 prepartum cows, and in 51.7% of the farms the facilities for these cows was  
25 compost barn. In relation to postpartum cow facilities, 70% of the farms were free-  
26 stall. The average daily milk yield per cow on each farm was negatively correlated  
27 with the percentage of fat ( $r = -0.61$ ) and protein ( $r = -0.49$ ) in the milk, and  
28 positively correlated with the number of milking and the percentage of the herd in  
29 bST.

30 KEYWORDS: food additives; free-stall; feedstuffs management; postpartum;  
31 prepartum

32

#### 33 4.3 INTRODUÇÃO

34

35 O estado do Paraná é o segundo maior produtor de leite do Brasil. A média  
36 de produção leiteira anual por vaca no estado foi 3.028 litros, correspondendo a  
37 média de 9,93 L/d, baseando-se nos dados da Embrapa (2018), de 4,826 bilhões  
38 de litros por 1.594 mil vacas ordenhadas.

39 A região centro-oriental do Paraná tem destaque no mercado lácteo no  
40 estado. O laticínio UNIUM que reúne a produção das três cooperativas da região  
41 foi a terceira maior empresa de lácteos brasileira em 2018, recebendo um total  
42 de 1,142 bilhões de litros de leite, totalizando 1.336 produtores, com média diária  
43 de 1.498 litros de leite por produtor (Embrapa, 2019).

44 A região dos Campos Gerais é caracterizada por possuir rebanhos  
45 leiteiros de alta produção. São rebanhos especializados que tem predominância  
46 de categorias produtivas em sistema de confinamento com uso de dieta total  
47 misturada. É frequente também o uso de tecnologias como o bST e aumento do  
48 número de ordenhas diárias, que ambas caracteristicamente repercutem em  
49 aumento da produtividade por vaca (St-Pierre *et al.*, 2014; Moallen *et al.*, 2019).  
50 E nessa região localiza-se o primeiro sistema robotizado de ordenha do Brasil  
51 (Paiva *et al.*, 2015).

52 Enquanto os índices produtivos, como porcentagem das vacas em  
53 lactação, produção leiteira individual, são indicativos da eficiência da atividade  
54 dentro da fazenda (Ferreira e Miranda, 2007). Outros parâmetros ganharam  
55 importância para a indústria e mercado consumidor, como o estabelecimento de  
56 limites de contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total  
57 (CBT) que são contudentes para melhorar a qualidade do leite, em maior  
58 rendimento, qualidades sensoriais e vida útil dos derivados lácteos.

59 Ademais fazendas tecnificadas têm investido recursos e atenção para as  
60 vacas que estão em transição, caracteristicamente que se encontram nas três  
61 semanas anteriores e posteriores em relação ao parto. Pois essa fase é  
62 determinante para a saúde e rentabilidade da vaca leiteira durante a lactação  
63 (Drackley, 1999), e desequilíbrios metabólicos nesta fase podem prejudicar a  
64 eficiência produtiva da futura lactação pela diminuição da produção leiteira,  
65 redução do desempenho reprodutivo e aumento na taxa de descarte (Hayirli *et*  
66 *al.*, 2002; Huzzey *et al.*, 2007).

67 Salienta-se a importância da nutrição nesta fase da vida do animal. Visto  
68 que o uso de dietas acidogênicas já é consagrado devido apresentar benefício

69 em relação a menor incidência de hipocalcemia clínica no pós-parto (NRC,  
70 2001). Níveis energéticos das dietas no pós-parto impactam no balanço  
71 energético negativo da vaca recém-parida (McCarthy *et al.*, 2015a; 2015b;  
72 Rabelo *et al.*, 2003), e a nutrição proteica e/ou aminoacídica no pré-parto impacta  
73 a produção leiteira de primíparas, segundo revisão de Husnain e Santos (2019).

74 Alguns aditivos não nutricionais, já consagrados por melhorar a eficiência  
75 do uso dos nutrientes, como a monensina também mostraram benefícios para  
76 vacas recém-paridas (McCarthy *et al.*, 2015a). No mais o uso de alguns  
77 nutrientes específicos, como a metionina e colina protegidas da degradação  
78 ruminal, têm apelo para aspectos de saúde, além da produtividade (Grummer,  
79 2008; Osorio *et al.*, 2013; Pinotti *et al.*, 2003).

80 O bem-estar animal, é importante nos rebanhos por que além de tudo  
81 aumenta a produção. O uso de ventilação e aspersão para vacas em período  
82 seco, diminuindo o estresse térmico, levou ao aumento da produção de leite (Tao  
83 e Dahl, 2013).

84 Todos os fatores elencados têm alguma influência no sucesso ou  
85 insucesso do período de transição nas fazendas leiteiras. Ações assertivas  
86 nestes pontos irão refletir na produtividade e saúde da vaca na lactação.

87 Considerando os aspectos mencionados anteriormente, o objetivo do  
88 presente trabalho foi caracterizar rebanhos leiteiros especializados da região dos  
89 Campos Gerais do Paraná, quanto aos índices produtivos e composição do leite  
90 destes rebanhos, e enfatizando o período de transição, como era a adoção de  
91 manejos, tecnologias, instalações e a nutrição no período de transição.

92

#### 93 4.4 MATERIAL E MÉTODOS

94 O trabalho de campo foi realizado durante o período de 15 de julho a 13  
95 de agosto de 2019. Foram visitadas, coletadas informações e amostras de dietas  
96 de 30 rebanhos leiteiros da região dos Campos Gerais do Paraná, nos  
97 municípios de Arapoti, Castro, Carambeí, Jaguariaíva e Tibagi. Tais rebanhos  
98 eram associados as cooperativas (Capal Cooperativa Agroindustrial, Frísia  
99 Cooperativa Agroindustrial e Castrolanda Cooperativa Agroindustrial). Os  
100 rebanhos incluídos neste estudo realizavam controle leiteiro oficial mensal pela  
101 Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa  
102 (APCBRH), e possuíam o mínimo de 100 vacas em lactação.

103 No questionário aplicado no dia da visita, os temas abordados foram: raça  
104 predominante do rebanho, tamanho do rebanho, índices produtivos das  
105 fazendas no dia da visita, composição do leite, número de ordenhas diárias,  
106 instalações, ventilação e aspersão, manejos de lotes, estratégias de  
107 alimentação, vagão forrageiro, limpeza das instalações, reprodução, uso de bST,  
108 uso de antibiótico e selante intramamário na secagem. Quanto aos dados de  
109 composição do leite, foram registrados os resultados do último controle leiteiro.  
110 Ademais os produtores foram questionados sobre as estratégias utilizadas no  
111 período de transição: se havia lote específico para vacas de pré-parto e pós-  
112 parto, separação de primíparas e múltíparas, baia maternidade e se os  
113 protocolos sanitários e preventivos (suplementação de cálcio e propilenoglicol)  
114 eram adotados. Os nutricionistas das respectivas fazendas foram consultados  
115 quanto ao uso de aditivos utilizados na alimentação de vacas pré-parto, pós-  
116 parto e de alta produção (colina, metionina protegida, gordura protegida,  
117 levedura, monensina e suplementação de sal/concentrado aniônico).

118 Foi realizada coleta de duas amostras de cada dieta dos lotes pré-parto e  
119 pós-parto nos rebanhos visitados, preferencialmente logo após o fornecimento.  
120 Uma amostra foi estocada, congelada e enviada ao Laboratório de Nutrição  
121 Animal (LNA) da Universidade Federal do Paraná (UFPR). No LNA foram  
122 analisadas 25 e 27 amostras de dieta total misturada, dos lotes pré-parto e pós-  
123 parto, respectivamente. Sendo excluídas as amostras de dietas parcialmente  
124 misturadas. As amostras foram descongeladas, pesadas (300 a 500 g) e pré-  
125 secas em estufa de ventilação forçada a 60-65 °C até obtenção de peso  
126 constante, para determinação da matéria seca parcial, e sequencialmente foram  
127 moídas em moinhos do tipo Wiley a 1 mm. Então foi determinado a matéria seca  
128 total à 105 °C, a proteína bruta (PB), pelo método de micro Kjeldahl (AOAC,  
129 1990) e o extrato etéreo (AOAC, 1990). A determinação das cinzas foi feita pela  
130 queima da matéria orgânica à 550 °C durante 3 h, e a determinação dos níveis  
131 de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido foram feitos  
132 segundo a metodologia de Van Soest et al. (1991), que utiliza  $\alpha$ -amilase para o  
133 FDN.

134 Outra amostra de DTM (300 a 500 g) de dietas pré-parto ou pós-parto, foi  
135 utilizada para determinação do tamanho de partículas, utilizando o conjunto de  
136 peneiras *Penn State Particle Separator*. O FDN fisicamente efetivo (feFDN) foi

137 calculado a partir do teor de FDN da dieta multiplicado pela proporção de  
138 partículas retidas nas peneiras de 19 mm e 8 mm.

139 As variáveis quantitativas dos rebanhos foram submetidos à correlação  
140 de Pearson, sendo elas: número de vacas em lactação; porcentagem das vacas  
141 em lactação; produção leiteira diária da fazenda; média da produção de leite  
142 diária por vaca no dia da visita; dias em leite (DEL) do rebanho no dia da visita;  
143 contagem de células somáticas (CCS), teor de gordura, teor de proteína do leite,  
144 nitrogênio ureico do leite (NUL) do último controle leiteiro; número de ordenhas  
145 diárias da fazenda; capacidade de ordenha (número de conjuntos de ordenha);  
146 porcentagem das vacas em lactação que recebem bST.

147 Os dados obtidos foram tabulados e analisados pelos procedimentos  
148 FREQ, MEANS e CORR do software SAS (v. 9). Nível de significância foi  
149 considerado quando  $P < 0,05$ .

150

#### 151 4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

152

153 Na Tabela 7 estão descritas as características produtivas das 30 fazendas  
154 leiteiras visitadas. Contabilizando o número de vacas em lactação e de vacas  
155 secas, totalizaram 12.033 animais, sendo 10.460 vacas em lactação.

156

157 TABELA 7 - Características produtivas e do número de animais no rebanho de  
158 30 fazendas leiteiras da região dos Campos Gerais do Paraná.

Parâmetro	Média $\pm$ DP	Mínimo	Máximo
Número total de vacas (n =30)*	401 $\pm$ 273	120	1407
Vacas em lactação (n = 30)	349 $\pm$ 241	99	1247
Vacas em lactação (%) (n = 30)	86,5 $\pm$ 3,23	79	91
DEL (n = 28)	176 $\pm$ 15	150	208
Gordura, % (n = 29)	3,78 $\pm$ 0,47	2,28	4,85
Proteína, % (n = 29)	3,39 $\pm$ 0,18	3,19	3,90
Lactose, % (n = 14)	4,67 $\pm$ 0,04	4,59	4,73
NUL, mg/dL (n = 23)	14,37 $\pm$ 2,49	10,5	18,6
CBT, ufc x10 <sup>3</sup> /mL (n = 26)	5 $\pm$ 4	2	24



CCS, cél. x10 <sup>3</sup> /mL (n = 29)	208 ± 95	82	489
Produção de leite, L/dia (n = 30)	35,57 ± 4,66	25	42,1

159 \* n = número de fazendas que foram incluídas nos dados descritivos.

160 DEL= dias em leite, NUL = nitrogênio ureico no leite, CBT = contagem bacteriana  
161 total, CCS = contagem de células somáticas.

162

163 Neste estudo observamos média de 401 ± 253 vacas por rebanho (Tabela  
164 7). Comparativamente aos Estados Unidos, o trabalho de Brotzman *et al.* (2015)  
165 mostrou média de 650 ± 770 vacas (mínimo de 203 e máximo de 8.064 vacas  
166 observadas nos rebanhos). Quanto a porcentagem de vacas em lactação, a  
167 recomendação de Ferreira e Miranda (2007) seria de 83%, e observamos 86,5%.  
168 Outro parâmetro zootécnico pertinente é o DEL médio, sendo observado nos  
169 rebanhos avaliados valor ligeiramente inferior (176 ± 15) ao descrito por  
170 Brotzman *et al.* (2015) de 185 ± 13 em seu estudo. Recomenda-se DEL médio  
171 inferior a 180. Valores, acima são indicativos de baixo desempenho reprodutivo,  
172 uma vez que há menor proporção de vacas em início de lactação.

173 Quanto à produtividade diária por vaca dos rebanhos avaliados,  
174 encontramos média de 35,57 ± 4,66 L vaca dia<sup>-1</sup>, indicando rebanhos altamente  
175 especializados os que participaram do estudo. Pois a média paranaense é de  
176 9,93 L vaca dia<sup>-1</sup>, baseando-se nos dados da Embrapa (2018). A média brasileira  
177 ficou muito aquém do perfil dos rebanhos avaliados (1.963 kg lactação<sup>-1</sup>,  
178 correspondendo a 6,4 kg vaca dia<sup>-1</sup>) (dados de 2017, Embrapa, 2019).

179 Dentre os 30 rebanhos visitados, 8 deles estão entre os 100 maiores  
180 produtores de leite do Brasil, segundo o levantamento do MilkPoint (2020). O  
181 que favorece o entendimento do perfil dos dados obtidos. A média de produção  
182 dos Top 100 em 2019 foi de 27,58 L vaca dia<sup>-1</sup>.

183 Quanto a qualidade do leite, a normativa 76 do Ministério da Agricultura,  
184 Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2018) manteve os limites para CCS de 500 x  
185 10<sup>3</sup> células mL<sup>-1</sup> e CBT de 300 x 10<sup>3</sup> unidades formadoras de colônias mL<sup>-1</sup>. No  
186 entanto observamos valores bastante inferiores a normatização nos rebanhos  
187 entrevistados (208 ± 95 x 10<sup>3</sup> células mL<sup>-1</sup> para CCS, e 5 ± 4 x 10<sup>3</sup> ufc mL<sup>-1</sup> para  
188 CBT). Enquanto no levantamento do MilkPoint (2019) a média dos Top 100 foi  
189 de 284.633 células mL<sup>-1</sup> para CCS e 17.548 ufc mL<sup>-1</sup> para CBT. Segundo  
190 Gonçalves *et al.* (2019) níveis de CCS superiores a 200 x 10<sup>3</sup> células mL<sup>-1</sup>, que

191 categoriza-se como mastite subclínica, estão relacionados a perdas econômicas  
192 em virtude da diminuição da produção de leite.

193 Na Tabela 8 constam características dos rebanhos, instalações e manejos  
194 adotados nas fazendas visitadas. Em vinte e sete rebanhos a raça predominante  
195 foi a Holandesa e em três rebanhos a raça Jersey.

196 Ressalta-se que haviam dois rebanhos com sistema robotizado de  
197 ordenha dentre aqueles visitados, com número de ordenhas variável  
198 diariamente. Excluindo esses dois rebanhos, a média de frequência de ordenhas  
199 foi  $2,54 \pm 0,51$  vezes ao dia. Cinquenta por cento das fazendas adotavam três  
200 ordenhas diárias (Tabela 8). Segundo dados de Moallen *et al.* (2019), a mudança  
201 de duas para três ordenhas diárias aumenta a produção de leite em 3,5 kg vaca  
202 dia<sup>-1</sup>, para vacas de alta produção.

203

204 TABELA 8 – Frequência de respostas para aspectos de manejo e instalações de  
205 30 rebanhos leiteiros com  $\geq 100$  vacas em lactação, na região dos Campos  
206 Gerais do Paraná.

Característica de manejo	Categoria/nível	N	%
Raça principal do rebanho	Holandês	27	90
	Jersey	3	10
Perfil da sala de ordenha	Espinha-de-peixe	15	50
	Paralela	12	40
	Tandem	1	3,33
	Robô	2	6,67
Número de ordenhas diárias	2	13	43,33
	3	15	50
	Variável	2	6,67
Uso de antibiótico intramamário na secagem	Sim	30	100
	Não	0	0
Uso de selante intramamário na secagem	Sim	23	76,67
	Não	7	23,33
Inseminação artificial por observação de cio, com ou sem o uso de prostaglandinas	Sim	24	80
	Não	6	20
Uso de programa de sincronização reprodutiva (IATF)	Sim	20	66,67
	Não	10	33,33
Programa elencado para a sincronização reprodutiva	CIDR Ovsynch	18	90
	Double Ovsynch	1	5
	Presynch	1	5
Uso de outra estratégia para detecção de cio e IA	Transferência de embrião, colar de ruminação, etc	5	16,67
Uso de somatotropina bovina	Sim	23	76,67

	Não	7	23,33
Lactotropin	Sim	21	91,3
Boostin	Sim	7	30,43
Corredores até a sala de ordenha	Concreto	27	90
	Terra	2	6,67
	Borracha	3	10
Sala de espera	Concreto	21	70
	Borracha	9	30
Sala de ordenha	Concreto	8	26,67
	Borracha	22	73,33
Limpeza das instalações	Flushing	1	3,33
	Trator	19	63,33
	Raspadores automáticos	12	40
	Limpeza manual	3	10
Vagão forrageiro	Horizontal	19	63,33
	Vertical	13	43,33

207

208 Quanto a adesão das fazendas à terapia de antibiótico intramamário na  
 209 secagem das vacas foi total. Já o selante era usado em 76% das fazendas. No  
 210 trabalho de Brotzman *et al.* (2015) a adesão ao uso de antibiótico na secagem  
 211 foi de 97% (n = 195) e de 86% (n = 174) ao uso de selante. Segundo Freu *et al.*  
 212 (2019), a implicância do uso de antibiótico intramamário com o selante na  
 213 secagem é a redução do risco de novas contaminações durante o período seco  
 214 e de ocorrência de mastite clínica no início da lactação, tais constatações foram  
 215 observadas no trabalho dos autores comparando este tratamento ao uso isolado  
 216 do antibiótico na secagem.

217 Em relação aos manejos reprodutivos, foi verificado que 80% das  
 218 fazendas adotavam inseminação artificial por observação de cio (Tabela 8), com  
 219 ou sem administração prévia de prostaglandina, e 66% dos rebanhos faziam  
 220 sincronização de cio, sendo o programa elencado com maior frequência o CIDR  
 221 Ovsynch (90% das fazendas que faziam inseminação artificial por tempo fixo  
 222 usavam este programa). Nos Estados Unidos Brotzman *et al.* (2015) verificaram  
 223 que 72% das fazendas avaliadas (n = 146) utilizam a sincronização de cio como  
 224 primeira opção para emprenhar as vacas, e o protocolo de maior frequência de  
 225 escolha foi o Presynch (34,8%, n = 70). Lawton *et al.* (2016) em um levantamento  
 226 envolvendo 72 fazendas leiteiras em Nova York e Vermont, verificaram que entre  
 227 os rebanhos que utilizavam programas de sincronização de cio, 50% usavam o  
 228 programa Presynch.

229 Os perfis de sala de ordenha mais frequentes foram os tipos espinha-de-  
 230 peixe (50%) e paralela (40%) (Tabela 8). Em rebanhos dos Estados Unidos  
 231 Brotzman *et al.* (2015) também observaram maior frequência de sala de ordenha  
 232 do tipo espinha de peixe (22,9%) e paralela (59,2%).

233 Quanto a outras características de instalações, os pisos de borracha  
 234 favorecem o conforto e diminuem riscos de acidentes são válidas. Nas fazendas  
 235 avaliadas, os corredores que dão acesso a sala de ordenha foram, na maioria,  
 236 de concreto (90%). Na sala de espera, 30% das fazendas possuíam piso de  
 237 borracha, e na sala de ordenha 73,33% (Tabela 8). Brotzman *et al.* (2010)  
 238 observaram 7,5% (n= 15) das fazendas com o piso dos corredores de borracha,  
 239 25,4% (n= 51) com o piso da sala de espera de borracha e 51,7% (n=104) das  
 240 salas de ordenha com piso de borracha. Além disso, verificamos que a limpeza  
 241 dos barracões era feita principalmente com trator (63,33% das fazendas) e com  
 242 raspadores automáticos (40% das fazendas) (Tabela 8).

243 Em relação ao manejo nutricional, observamos que todas as fazendas  
 244 possuíam vagão forrageiro, predominando o tipo horizontal (Tabela 8).

245 Quando os produtores foram questionados sobre aspectos do período de  
 246 transição em seus rebanhos, observamos que 93,33% deles possuíam lote  
 247 específico para as vacas de pré-parto. Isso mostra que em fazendas  
 248 especializadas há a consciência da importância desta fase na vida produtiva da  
 249 vaca leiteira.

250

251 TABELA 9 – Frequência de respostas para aspectos de manejo e instalações de  
 252 vacas em pré-parto de 30 rebanhos leiteiros da região dos Campos Gerais do  
 253 Paraná.

PRÉ-PARTO	Categoria/nível	N	%
Presença de lote exclusivo para vacas pré-parto com fornecimento de dieta aniônica	Sim	28	93,33
	Não	2	6,67
Sistema adotado na fazenda	Não-confinadas	6	20,69
	<i>Compost barn/cama sobreposta</i>	15	51,72
	<i>Free-stall</i>	8	27,59
Novilhas são separadas de vacas no pré-parto	Sim	9	32,14
	Não	19	67,86
Presença de área/baia ou piquete maternidade	Sim	16	53,33
	Não	14	46,67

Mudança para a área de maternidade	Ao sinal de parto	13	81,25
	De 3 a 7 dias antes do parto	3	18,75
Protocolos sanitários	Sim	21	70
	Não	9	30

254

255 Conforme dados da Tabela 9, a maioria dos rebanhos possuía sistema de  
 256 *compost barn* ou cama sobreposta (51,7%) para alocar os animais em pré-parto,  
 257 e 53,3% das fazendas possuíam área, baia ou piquete maternidade, sendo que  
 258 na maioria das fazendas, as vacas eram conduzidas para este local quando  
 259 haviam sinais característicos da proximidade do parto.

260 A maioria das fazendas mantinham as vacas pós-parto em sistemas de  
 261 confinamento (*free-stall* ou *compost barn*) (Tabela 10). Caracteristicamente o  
 262 confinamento permite ou implica na necessidade de melhores condições de  
 263 manejo e fornecimento de dietas adequadas, o que aumenta as chances de  
 264 maior produção de leite do sistema, em relação à sistemas não-confinados  
 265 (Trindade *et al.*, 2019). E o sistema de *free-stall* foi o mais adotado para as vacas  
 266 de pós-parto nos rebanhos (Tabela 10). Segundo o levantamento do MilkPoint  
 267 (2020) entre os 100 maiores produtores de leite do Brasil, também há maior  
 268 adesão do *free-stall* nos sistemas de produção (43% dos rebanhos), enquanto  
 269 57,14% dos rebanhos da região Sul que estão no levantamento têm o sistema  
 270 *free-stall*.

271 Conforme apontado na Tabela 10, a maioria dos rebanhos possuía lote  
 272 destinado para vacas recém-paridas. E a adesão a protocolos para vacas pós-  
 273 parto foi pouco frequente, mostrando o crescente desuso dessas estratégias.

274

275 TABELA 10 – Frequência de respostas para aspectos de manejo e instalações  
 276 de vacas em pós-parto de 30 fazendas leiteiras da região dos Campos Gerais  
 277 do Paraná.

PÓS-PARTO	Categoria/nível	N	%
Presença de lote pós-parto	Sim	23	76,67
	Não	7	23,33
Sistema adotado na fazenda	Não-confinadas	2	6,67
	<i>Compost barn</i> /cama sobreposta	7	23,33
	<i>Free-stall</i>	21	70
Novilhas separadas de vacas no pós-parto	Sim	8	26,67
	Não	22	73,33

Suplementação de cálcio feita como protocolo	Sim	9	30
	Não	21	70
Propilenoglicol feito como protocolo	Sim	4	13,13
	Não	26	86,67

278

279 A estratégia de separação de primíparas e multíparas no pré-parto e pós-  
 280 parto foi frequente em 32% e 26% das fazendas, conforme as Tabelas 9 e 10,  
 281 respectivamente. Tal manejo permite que as primeiras sofram menos com a  
 282 dominância social e tenham maior acessibilidade a área de alimentação. Outro  
 283 benefício, é a oportunidade de oferecer dieta específica para este grupo,  
 284 principalmente no pré-parto, quando as exigências proteicas são superiores às  
 285 vacas (Husnain e Santos, 2019). Porém, nem sempre essa separação é possível  
 286 nas fazendas, principalmente em rebanhos pequenos e médios. Lawton *et al.*  
 287 (2016) em seu levantamento com 72 fazendas, verificaram que 32 e 27,8% dos  
 288 rebanhos separavam lotes por ordem de lactação no pré-parto e pós-parto,  
 289 respectivamente. Somente após o pós-parto, quando as vacas entravam no lote  
 290 de alta produção é que 82% dos rebanhos separavam primíparas de multíparas.

291 De acordo com Brotzman *et al.* (2015), a maior adesão a separação por  
 292 ordem de lactação ocorreu em fazendas mais especializadas (32 fazendas neste  
 293 grupo, com média de 1.716 vacas), onde 97% dos produtores, afirmaram fazer  
 294 este manejo. Por outro lado, em dois grupos de rebanhos menores (média de  
 295 317 e 312 vacas) a estratégia de separação era menos frequente (48,5% e  
 296 60,9%, respectivamente). No mesmo trabalho (Brotzman *et al.*, 2015) os autores  
 297 mostraram que algumas tecnologias e manejos foram frequentemente mais  
 298 adotadas por rebanhos de maior porte, como o uso de bST, dois tratos diários  
 299 para as vacas no período seco e pré-parto e utilização de baias maternidade  
 300 individuais no momento do parto.

301 Na Tabela 11 constam as correlações de Pearson entre as variáveis de  
 302 rebanho. O tamanho do rebanho não foi correlacionado com a proporção de  
 303 vacas em lactação. Portanto, essa característica é dependente de outros  
 304 fatores. E também não foi correlacionado com produtividade média diária por  
 305 vaca, e sim com capacidade de ordenha (conjuntos de ordenha). A produtividade  
 306 média diária por vaca foi correlacionada negativamente com porcentagem de  
 307 gordura ( $r = -0,61$ ) e proteína ( $r = -0,49$ ) no leite, e positivamente com número de  
 308 ordenhas e com a porcentagem do rebanho em bST. É relevante destacar a

309 correlação do número de ordenhas, com a proporção do rebanho em bST, que  
310 reflete a intensificação no uso de tecnologias por parte de alguns rebanhos.

311 Porém a adesão à outras tecnologias, como ventiladores e aspersores  
312 para vacas em período seco ainda é baixa (Figura 4), pois não apresentam  
313 retorno econômico imediato. Mas de acordo com o trabalho de Tao e Dahl (2013)  
314 os autores observaram que vacas com estresse térmico durante o período seco  
315 produziram menos leite durante a lactação, comparativamente a vacas que  
316 foram resfriadas com aspersores e ventiladores neste período. Observamos, no  
317 entanto que ventiladores e aspersores eram utilizados em maior frequência para  
318 vacas de pré-parto e pós-parto.

319 Quanto ao uso de dieta total misturada, algumas fazendas não o faziam  
320 para vacas no pré-parto (13%, n= 4) (Figura 5), com a finalidade de suplementar  
321 o sal ou concentrado aniônico sob a dieta e garantir o consumo do mesmo, e  
322 85,71% das fazendas que usavam dieta total misturada forneciam a dieta uma  
323 vez ao dia. No trabalho de Lawton *et al.* (2016), 94% dos galpões de vacas pré-  
324 parto também faziam um único trato diário. Com relação as vacas de pós-parto,  
325 observamos que a maioria dos rebanhos utilizava 2 tratos diários, e alguns  
326 rebanhos utilizavam 3 tratos diários (23,33%), o que não ocorreu para lotes de  
327 vacas secas e pré-parto.

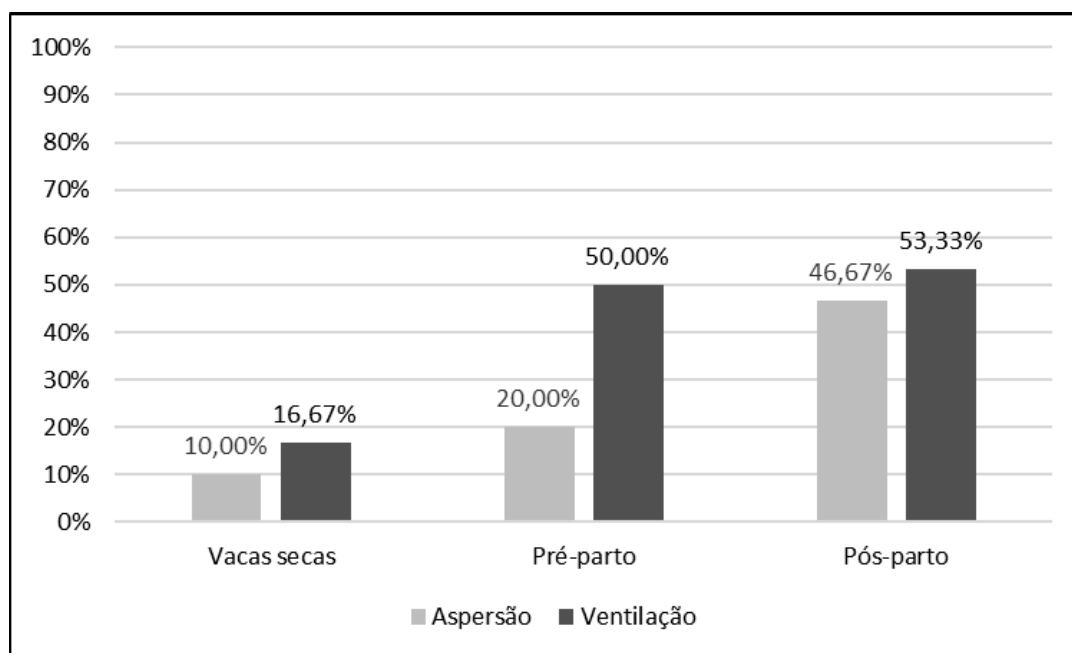


328 TABELA 11 – Correlações de Pearson entre 13 variáveis de rebanho de 30 fazendas leiteiras da região dos Campos Gerais do  
 329 Paraná.

Parâmetros <sup>1</sup>													
	T.Reb	%Lact	PLfaz	PLvaca	DEL	CCS	%G	%P	%L	NUL	NOR	COR	%bST
T.Reb	1,00	0,22	0,97**	0,19	-0,22	0,05	-0,02	-0,06	-0,15	0,03	0,27	0,77**	0,23
%Lact		1,00	0,18	-0,13	0,16	0,09	-0,03	0,24	-0,23	-0,16	0,22	0,25	0,25
PLfaz			1,00	0,35	-0,23	-0,02	-0,08	-0,12	-0,11	0,01	0,38	0,78**	0,32
PLvaca				1,00	0,02	-0,21	-0,61**	-0,49**	0,31	-0,21	0,56*	0,29	0,46*
DEL					1,00	0,36	-0,14	-0,14	0,03	-0,61*	0,00	-0,03	0,32
CCS						1,00	0,02	-0,23	-0,43	-0,36	-0,33	-0,10	-0,18
%G							1,00	0,56*	-0,12	0,17	-0,15	-0,2	-0,22
%P								1,00	-0,17	0,06	0,03	-0,17	0,13
%L									1,00	0,28	0,16	-0,14	0,07
NUL										1,00	-0,24	-0,08	-0,38
NOR											1,00	0,37	0,8**
COR												1,00	0,14
%bST													1,00

330 T.Reb= número de vacas em lactação; %Lact=porcentagem das vacas adultas em lactação; PLfaz=produção leiteira diária da  
 331 fazenda em litros; PLvaca=média da produção leiteira diária por vaca; DEL= dias em leite; CCS= contagem de células somáticas;  
 332 %G= teor de gordura do rebanho no último controle leiteiro; %P = teor de proteína do rebanho no último controle leiteiro;  
 333 NUL=nitrogênio ureico do leite do último controle leiteiro; NOR= número de ordenhas diárias da fazenda; COR= capacidade de  
 334 ordenha; %bST= porcentagem das vacas em lactação no bST. \*significativo a P < 0,05; \*\*significativo a P < 0,001

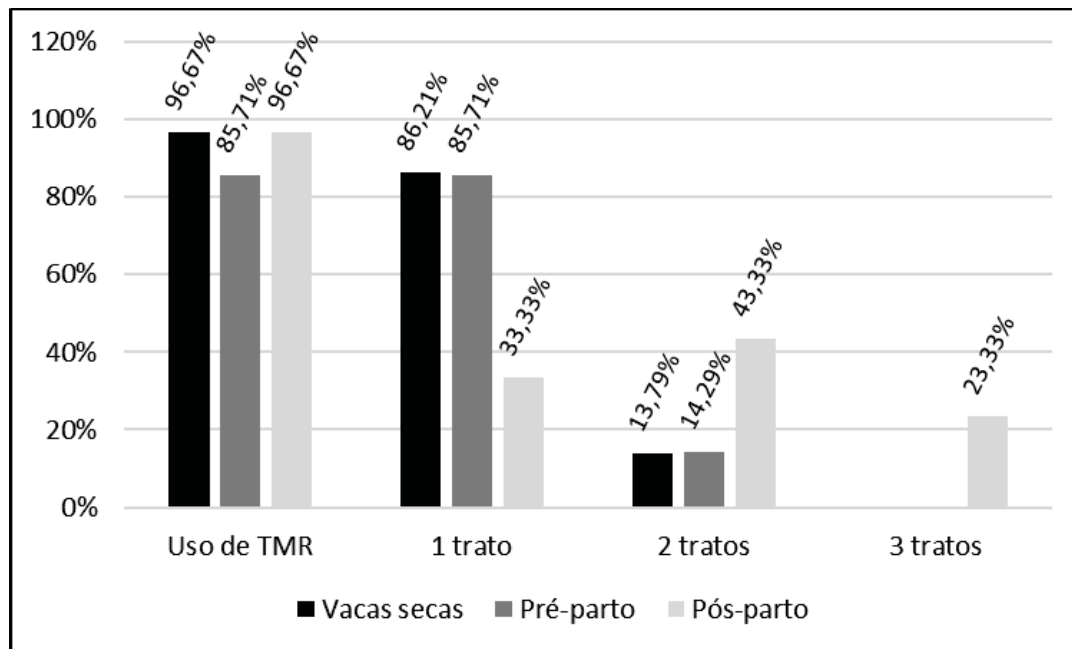
335



336

337 FIGURA 4 – Frequência de uso de aspersão e ventilação nos lotes de vacas  
 338 secas, vacas pré-parto e vacas em pós-parto de 30 rebanhos leiteiros da região  
 339 dos Campos Gerais do Paraná.

340

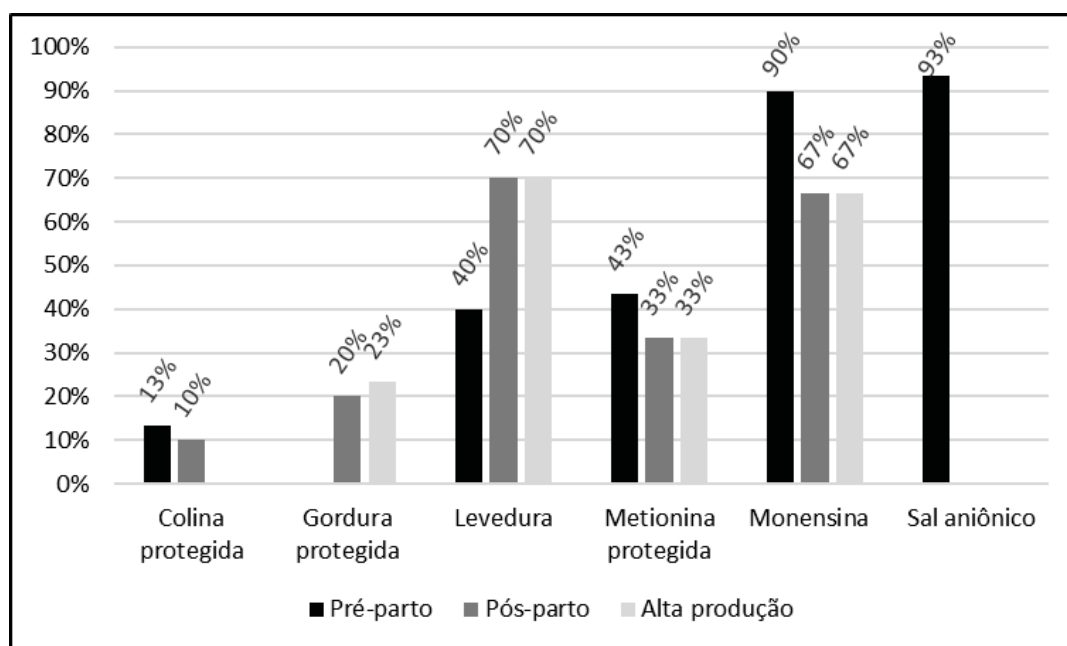


341

342 FIGURA 5 – Frequência do uso de dieta total misturada no período seco e no  
 343 período de transição (pré-parto e pós-parto) e frequência do número de tratos  
 344 diários, em 30 rebanhos leiteiros da região dos Campos Gerais do Paraná.

345

346 O uso de aditivos para vacas em período de transição nos rebanhos  
 347 leiteiros dos Campos Gerais está demonstrado na Figura 6. Observamos que o  
 348 sal ou concentrado aniônico na dieta de animais pré-parto foi adicionado em 93%  
 349 dos rebanhos. Enquanto a monensina estava presente em 90% das dietas de  
 350 lotes de vacas pré-parto (Figura 6).  
 351



352  
 353 FIGURA 6 – Frequência de uso de aditivos (levedura, monensina e sal aniônico)  
 354 e metionina, colina e gordura protegida para vacas em pré-parto, pós-parto e lote  
 355 de alta produção, de 30 rebanhos leiteiros da região dos Campos Gerais do  
 356 Paraná.

357  
 358 O uso de monensina nas dietas, mostra bom custo-benefício, e é  
 359 recomendado tanto no pré-parto quanto no pós-parto. Sua inclusão tem efeito no  
 360 aumento da produção ruminal de propionato, incrementando o metabolismo  
 361 energético e aumentando a capacidade do fígado em utilizar propionato para  
 362 sintetizar glicose (McCarthy *et al.*, 2015), e resulta em aumento da eficiência  
 363 alimentar em 2,5% (Duffield *et al.* 2008). Outro aditivo usado em 70% dos  
 364 rebanhos, nos lotes de pós-parto e alta produção foi a levedura. Assim como a  
 365 monensina, o custo de suplementação diária é baixo e os possíveis efeitos do  
 366 uso estão em melhorar a fermentação da fibra dietética, e estabilizar o pH  
 367 ruminal.

368 Já a suplementação diária de colina e/ou metionina protegidas são mais  
 369 onerosas dentro da dieta. Mesmo assim verificamos que 43% dos rebanhos  
 370 utilizavam metionina protegida no pré-parto, e 33% utilizavam no pós-parto e lote  
 371 de alta produção. Os benefícios do uso de metionina protegida estão em  
 372 aumentar os teores de gordura e proteína no leite, e participação na transferência  
 373 de grupos metil para a formação de lipoproteínas de muito baixa densidade  
 374 (VLDL) e da metilação do DNA, participando de processos epigenéticos, tendo  
 375 ainda impacto na melhora do sistema imune (Osorio *et al.*, 2013).

376 A adesão ao uso de colina protegida foi baixa nos rebanhos avaliados  
 377 (13,33% e 10% no pré-parto e pós-parto, respectivamente). Mas ressalta-se que  
 378 durante o período de transição há maior exigência de colina para a síntese de  
 379 VLDL, que exporta os triglicerídeos do fígado, sendo a colina um nutriente  
 380 limitante nesta fase (Grummer, 2008). A suplementação de colina no período de  
 381 transição gera benefícios, como verificado no trabalho de Pinotti *et al.* (2003),  
 382 que observaram aumento na produção de leite em 2,9 kg vaca dia<sup>-1</sup> no primeiro  
 383 mês de lactação e aumento na produção de gordura (0,88 vs 1,06 kg dia<sup>-1</sup>).

384 O uso de gordura protegida para vacas de alta produção, favorece a  
 385 produção de gordura no leite e aumenta o leite corrigido para gordura (Boerman  
 386 *et al.*, 2015). Porém o custo da suplementação é elevado. No presente estudo  
 387 observamos que 23% dos rebanhos avaliados utilizavam alguma fonte de  
 388 gordura para as vacas de alta produção. Para vacas recém-paridas a  
 389 suplementação pode acentuar o balanço energético negativo.

390 Na Tabela 12 encontram-se os níveis nutricionais analisados nas dietas  
 391 totalmente misturadas de pré-parto e pós-parto (Tabela 12).

392

393 TABELA 12 – Análise bromatológica (média ± DP) de dietas totalmente  
 394 misturadas (DTM) de lotes pré-parto e pós-parto de rebanhos leiteiros da região  
 395 dos Campos Gerais do Paraná.

Nutriente	Pré-parto	Pós-parto
MS, %	42,76 ± 5,80 (n=25)	48,16 ± 3,90 (n=27)
Cinzas, %MS	6,49 ± 1,57 (n=24)	6,97 ± 1,32 (n=27)
PB, %MS	13,48 ± 2,76 (n=25)	15,91 ± 1,88 (n=27)
EE, %MS	3,59 ± 0,65	3,98 ± 0,76

	(n=25)	(n=27)
FDN, %MS	41,87 ± 4,77	34,07 ± 2,87
	(n=25)	(n=27)
FDA, %MS	22,59 ± 3,22	17,31 ± 2,14
	(n=25)	(n=27)
feFDN, %MS	27,37 ± 5,07	17,86 ± 2,89
	(n=24)	(n=27)

396 MS= matéria seca; PB= proteína bruta; EE= extrato etéreo; FDN= fibra em  
 397 detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; feFDN= FDN fisicamente  
 398 efetivo.

399

400 Observamos que os níveis de PB das dietas no pré-parto e pós-parto  
 401 foram inferiores aqueles encontrados por Lawton *et al.* (2016) nos Estados  
 402 Unidos (13,5 e 15,9% vs. 14,5 e 16,4%). Para multíparas no pré-parto a  
 403 exigência de 12% de PB segundo o NRC (2001) está sendo atingida, porém  
 404 segundo Husnain e Santos (2019) níveis adequados de PB para novilhas no pré-  
 405 parto deveriam ser entre 14 a 15%, para atender o crescimento corporal e da  
 406 glândula mamária.

407 Os níveis de FDN para pré-parto e pós-parto foram de 41,9 e 34,1%  
 408 (Tabela 12). Quando aos níveis de FDN na dieta, o NRC (2001) admite níveis de  
 409 25%, contanto que 19% sejam oriundos de forragem, conforme diminui o FDN  
 410 de forragem, aumenta-se a exigência de FDN da dieta total. No entanto além dos  
 411 níveis de fibra, a efetividade da fibra deve ser considerada, através do FDN  
 412 fisicamente efetivo, que é a fração do FDN que estimula a atividade de  
 413 mastigação, ruminação e formação do *mat ruminal* (White *et al.*, 2017).

414 O FDN fisicamente efetivo é calculado através da multiplicação do nível  
 415 de FDN do alimento ou dieta pela soma da proporção de partículas retidas nas  
 416 peneiras de 19 mm e 8 mm do *Penn State Particle Separator* (Zebeli *et al.*, 2012).

417 Nas dietas de pré-parto, foi verificado maior feFDN e maior proporção de  
 418 partículas retidas nas peneiras de 19 mm e 8 mm (Tabela 13), como era  
 419 esperado, em virtude de maior inclusão proporcional de alimentos volumosos  
 420 para esse grupo de animais.

421

422 TABELA 13 – Distribuição do tamanho de partícula (média ± DP) de amostras  
 423 de dietas totalmente misturadas (DTM) avaliadas pelo conjunto de peneiras

424 Penn State Particle Separator, durante as visitas a rebanhos leiteiros da região  
425 dos Campos Gerais do Paraná.

Peneira	Pré-parto	Pós-parto
19 mm, %	20,94 ± 14,27	15,95 ± 8,71
8 mm, %	43,17 ± 13,18	36,43 ± 6,65
4 mm, %	12,54 ± 2,93	12,79 ± 3,60
Fundo, %	23,35 ± 7,85	34,83 ± 8,59

426

#### 427 4.6 CONCLUSÕES

428 O perfil das fazendas avaliadas condiz com sistemas de alta produção de  
429 leite e com alta adoção de tecnologias como o uso de DTM, uso de bST,  
430 formação de lotes pré-parto com inclusão de dieta aniônica e presença de lote  
431 pós-parto. A média de produção leiteira das fazendas visitadas é superior à  
432 média brasileira e paranaense, e o leite produzido é de alta qualidade, com baixa  
433 CCS e CBT. A maioria dos sistemas de produção foram confinados, que alocam  
434 as vacas pré-parto em *compost barn* ou cama sobreposta, e as vacas pós-parto  
435 em sistema *free-stall*.

436

#### 437 REFERÊNCIAS

438 BOERMAN, J. P.; POTTS, S. B.; VANDEHAAR, M. J.; LOCK, A. L. Effects of  
439 partly replacing dietary starch with fiber and fat on milk production and energy  
440 partitioning. *J. Dairy Sci.*, v. 98, p.7264-7276, 2015.

441 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução  
442 Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. Estabelece o regulamento de  
443 identidade e qualidade de leite cru refrigerado, leite pasteurizado e leite  
444 pasteurizado tipo A. Brasília, 2018.

445 BROTZMAN, R.L.; DOPFER, D.; FOY, M.R.; HESS, J.P.; NORDLUND, K.V.;  
446 BENNETT, T.B.; COOK, N.B. Survey of facility and management characteristics  
447 of large, Upper Midwest dairy herds clustered by Dairy Herd Improvement  
448 records. *J. Dairy Sci.*, v.98, p.1-17, 2015.

449 DUFFIELD, T. F.; RABIEE, A. R.; LEAN, I. J. A meta-analysis of the impact of  
450 monensin in lactating dairy cattle. Part 2. Production effects. *J. Dairy Sci.*, v. 91,  
451 p. 1347-1360, 2008.

452 EMBRAPA. Anuário Leite 2018. Disponível em <[https://www.embrapa.br/busca-](https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1094149/anuario-leite-2018-indicadores-)  
453 [de-publicacoes/-/publicacao/1094149/anuario-leite-2018-indicadores-](https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1094149/anuario-leite-2018-indicadores-)

454 tendencias-e-oportunidades-para-quem-vive-no-setor-leiteiro>. Acesso em: 12  
455 jan. 2020.

456 EMBRAPA. Anuário Leite 2019. Disponível em <  
457 <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1109959>>. Acesso  
458 em 13 fev. 2020.

459 FERREIRA, A. M.; MIRANDA, J. E. C. Medidas de eficiência da atividade leiteira:  
460 índices zootécnicos para rebanhos leiteiros: Comunicado técnico. Embrapa, p.1-  
461 8, 2007.

462 FREU, G.; FIDELIS, C. E.; GARCIA, B. L. N.; MONTEIRO, C. P.; TOMAZI, T.;  
463 SANTOS, M. V. Selante intramamário na secagem de vacas leiteiras reduz  
464 novas infecções intramamárias. In: VIII Congresso Brasileiro de Qualidade do  
465 Leite, 2019, Lages, SC. *Anais... ANAIS DO VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE*  
466 *QUALIDADE DO LEITE*, 2019. p. 296-297.

467 GONÇALVES, J. L.; CUE, R. I.; NETTO, E. P. L.; GAMEIRO, A. H.; SANTOS, M.  
468 V. Impacto da mastite subclínica sobre o desempenho econômico de rebanhos  
469 leiteiros. In: VIII Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite, 2019, Lages, SC.  
470 *Anais... ANAIS DO VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO*  
471 *LEITE*, 2019. p. 305-306.

472 GRUMMER, R.R. Nutritional and management strategies for the prevention of  
473 fatty liver in dairy cattle. *Vet. J.*, v.176, p.10-20, 2008.

474 HAYIRLI, A.; GRUMMER, R.R.; NORDHEIM, E.V.; CRUMP, P.M. Animal and  
475 dietary factors affecting feed intake during the prefresh transition period in  
476 Holsteins. *J. Dairy Sci.*, v.85, p.3430-3443, 2002.

477 HUSNAIN, A., SANTOS, J. E. P. Meta-analysis of the effects of prepartum dietary  
478 protein on performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 102, p. 9791-9813, 2019.

479 HUZZEY, J.M.; VIEIRA, D.M.; WEARY, D.M.; VON KEYSERLINGK, M.A.G.  
480 Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis.  
481 *J. Dairy Sci.*, v.90, p.3220-3233, 2007.

482 LAWTON, A.B.; BURHANS, W.S.; NYDAM, D.V.; TETREAULT, M.; OVERTON,  
483 T.R. Northeast dairy herd characteristics: transition cow management strategies,  
484 performance, culling, and health. *J. Dairy Sci.*, v.94(5), p.585, 2016.

485 MCCARTHY, M. M.; YASUI, T.; RYAN, C. M.; MECHOR, G. D.; OVERTON, T.  
486 R. Performance of early-lactation dairy cows as affected by dietary starch and  
487 monensin supplementation. *J. Dairy Sci.*, v. 98, p. 3335-3350, 2015a.



- 488 MCCARTHY, M.M.; YASUI, T.; RYAN, C.M.; MECHOR, G.D.; OVERTON, T.R.  
489 Metabolism of early lactation dairy cows as affected by dietary starch and  
490 monensin supplementation. *J. Dairy Sci.*, v. 98, p. 1-15, 2015b.
- 491 MILKPOINT. Levantamento Top 100 2019. Disponível em  
492 <<https://www.milkpoint.com.br/top100-2019-lp/>>. Acesso em 22 abr. 2020.
- 493 MILKPOINT. Levantamento Top 100 2020. Disponível em  
494 <<https://www.milkpoint.com.br/top100-2020-lp/>>. Acesso em 22 abr. 2020.
- 495 MOALLEM, U.; KAMER, H.; HOD, A.; LIFSHITZ, L.; KRA, G.; JACOBY, S.;  
496 PORTNICK, Y.; ZACHUT, M. Reducing milking frequency from thrice to twice  
497 daily in early lactation improves the metabolic status of high-yielding dairy cows  
498 with only minor effects on yields. *J. Dairy Sci.*, v. 102, 9468-9480, 2019.
- 499 NUTRIENT requirements of dairy cattle. 7.ed. Washington: National Research  
500 Council, 2001, 356p.
- 501 OSORIO, J.S; TREVISI, E.; JI, P.; DRACKLEY, J.K.; LUCHINI, D.; BERTONI,  
502 G.; LOOR, J.J. Supplemental Smartamine M or MetaSmart during the transition  
503 period benefits postpartal cow performance and blood neutrophil function. *J.*  
504 *Dairy Sci.*, v.96, p.6248-6263, 2013.
- 505 PAIVA, C.A.V; RIBEIRO, L.G; TOMICH, T.R; POSSAS, F.P, Sistema de ordenha  
506 automático, Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia, nº 79 - dezembro de  
507 2015.
- 508 PINOTTI, L.; BALDI, A.; POLITIS, I.; REBUCCI, R.; SANGALLI, L.; DELL'ORTO,  
509 V. Rumen-protected choline administration to transition cows: effects on milk  
510 production and vitamin E status. *J. Vet. Med.*, v.50, p.18-21 2003.
- 511 RABELO, E.; REZENDE, R. L.; BERTICS, S. J.; GRUMMER, R. R. Effects of  
512 transition diets varying in dietary energy density on lactation performance and  
513 ruminal parameters of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 86, p. 916-925, 2003.
- 514 TAO, S.; DAHL, G. E. Invited review: heat stress effects during late gestation on  
515 dry cows and their calves. *J. Dairy Sci.*, v. 96, p. 1-15, 2013.
- 516 TRINDADE, F.; PERAZZOLI, L.; MENDES, B. P.; KNOB, D. A.; NETO, A. T.  
517 Produção e qualidade do leite em sistemas de produção confinados e semi-  
518 confinado. In: VIII Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite, 2019, Lages, SC.  
519 *Anais...* ANAIS DO VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO  
520 LEITE, 2019. p. 114-115.

- 521 VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber,  
522 neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal  
523 nutrition. *J. Dairy Sci.*, v. 74, p. 3583-3597, 1991.
- 524 WHITE, R. R.; HALL, M. B.; FIRKINS, J.; KONONOFF, P. J. Physically adjusted  
525 neutral detergent fiber system for lactating dairy cow rations. I: Deriving equations  
526 that identify factors that influence effectiveness of fiber. *J. Dairy Sci.*, v. 100, p. 1-  
527 18, 2017.
- 528 ZEBELI, Q.; ASCHENBACH, J. R.; TAJAJ, M.; BOGUHN, J.; AMETAJ, B. N.;  
529 DROCHNER, W. Invited review: role of physically effective fiber and estimation  
530 of dietary fiber adequacy in high-producing dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, v. 95, v.  
531 1041-1056, 2012.

## REFERÊNCIAS GERAIS

- ALBORNOZ, R. I.; HARVATINE, K. J.; ALLEN, M. S. Diet starch concentration and starch fermentability affect energy intake and energy balance of cows in the early postpartum period. **Journal of Dairy Science**, v. 102, p. 5161-5171, 2019.
- ALBORNOZ, R.I.; ALLEN, M.S. Highly fermentable starch at different diet starch concentrations decreased feed intake and milk yield of cows in the early postpartum period. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 8902-8915, 2018.
- AZEVEDO, R. A.; COELHO, S. G. Resistência à insulina no período de transição de vacas leiteiras. **Nutritime – Revista Eletrônica**, v.13, 2016.
- BASTIN, C.; GENGLER, N.; SOYEURT, H. Phenotypic and genetic variability of production traits and milk fatty acid contents across days in milk for Walloon Holstein first-parity cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 4152-4163, 2011.
- BELL, A.W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 2804-2819, 1995.
- BERGE, A.C.; VERTENTEN, G. A field study to determine the prevalence, dairy herd management systems, and fresh cow clinical condition associated with ketosis in western European dairy herds. **Journal Dairy Science**, v. 97, p. 2145-2154, 2014.
- BIONAZ, M.; TREVISI, E.; CALAMARI, L.; LIBRANDI, F.; FERRARI, A.; BERTONI, G. Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 1740-1750, 2007.
- BLUM, J. W., KUNZ, P., LEUENBERGER, H., GAUTSCHI, K., KELLER, M. Thyroid hormones, blood plasma metabolites and haematological parameters in relationship to milk yield in dairy cows. **Animal Science**, v. 36, p. 93-104, 1983.
- BOERMAN, J. P.; POTTS, S. B.; VANDEHAAR, M. J.; LOCK, A. L. Effects of partly replacing dietary starch with fiber and fat on milk production and energy partitioning. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p.7264-7276, 2015.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. Estabelece o regulamento de identidade e qualidade de leite cru refrigerado, leite pasteurizado e leite pasteurizado tipo A. Brasília, 2018.

BROTZMAN, R.L.; DOPFER, D.; FOY, M.R.; HESS, J.P.; NORDLUND, K.V.; BENNETT, T.B.; COOK, N.B. Survey of facility and management characteristics of large, Upper Midwest dairy herds clustered by Dairy Herd Improvement records. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.1-17, 2015.

CARNEIRO, E. W.; HONORATO, S. H.; ICHIKAWA, E. E.; ALMEIDA, R. Increased serum calcium in dairy cows with oral calcium formate supplementation in the postpartum period. In: AMERICAN DAIRY SCIENCE ASSOCIATION, 2017, Pittsburgh. **Anais...Champaign: JOURNAL OF DAIRY SCIENCE**, 2017. v.100, p.87-88.

CHAPINAL, N.; CARSON, M. E.; LEBLANC, S. J.; LESLIE, K. E.; GODDEN, S.; CAPEL, M.; SANTOS, J. E. P. The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.1301-1309, 2012.

CHEBEL, R. C., MENDONÇA, L. G. D., BARUSELLI, P. S. Association between body condition score change during the dry period and postpartum health and performance. **Journal of Dairy Science**, v.101, p.4595-4614, 2018.

CUI, L.; WANG, H.; DING, Y.; LI, J.; LI, J. Changes in the blood routine, biochemical indexes and the pro-inflammatory cytokine expressions of peripheral leukocytes in postpartum dairy cows with metritis. **BMC Veterinary Research**, v. 15, p. 157, 2019.

CUNNINGHAM, J.G. Glândulas endócrinas e suas funções. In: \_\_\_\_\_. **Tratado de fisiologia veterinária**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2004, Cap.33, p.350-380.

DANN, H.M.; LITHERLAND, N.B.; UNDERWOOD, J.P.; BIONAZ, M.; D'ANGELO, A.; MCFADDEN, J.W.; DRACKLEY, J.K. Diets during far-off and close-up dry periods affect periparturient metabolism and lactation in multiparous cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 3563-3577, 2006.

DRACKLEY, J.K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2259-2273, 1999.

DUFFIELD, T. F.; RABIEE, A. R.; LEAN, I. J. A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 2. Production effects. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 1347-1360, 2008.

EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D.; FARVER, T.; WEBSTER, G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.72, p.68-78, 1989.

EMBRAPA. **Anuário Leite 2018**. Disponível em <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1094149/anuario-leite-2018-indicadores-tendencias-e-oportunidades-para-quem-vive-no-setor-leiteiro>>. Acesso em: 12 jan. 2020.

EMBRAPA. **Anuário Leite 2019**. Disponível em <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1109959>>. Acesso 13 fev. 2020.

FERREIRA, A. M.; MIRANDA, J. E. C. Medidas de eficiência da atividade leiteira: índices zootécnicos para rebanhos leiteiros: Comunicado técnico. **Embrapa**, p.1-8, 2007.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Overview of global dairy market developments in 2018**. Disponível em <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

FREU, G.; FIDELIS, C. E.; GARCIA, B. L. N.; MONTEIRO, C. P.; TOMAZI, T.; SANTOS, M. V. Selante intramamário na secagem de vacas leiteiras reduz novas infecções intramamárias. In: VIII Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite, 2019, Lages, SC. **Anais... ANAIS DO VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE**, 2019. p. 296-297.

GALLAGHER, K. R.; KERWIN, A. L.; TIKOFSKY, J. N.; MCCARTHY, M. M.; OVERTON, T. R. Rumen-protected methionine supplementation during early lactation and associations with plasma amino acid, metabolite concentrations and a novel metabolite health index. **Journal of Dairy Science**, v. 102(1), p. 21, 2019.

GODDEN, S.M.; STEWART, S.C.; FETROW, J.F.; RAPNICKI, P.; CADY, R.A.; WEILAND, W.; SPENCER, H.; EICKER, S. The relationship between herd rbST supplementation and other factors and risk for removal for cows in Minnesota Holstein dairy herds. In: FOUR-STATE NUTRITION CONFERENCE, 2003, LaCrosse, WI. **Proceedings...** Ames: MWPS - MidWest Plan Service publication, 2003. p. 55-64

- GOFF, J. P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 176, p. 50–57, 2008.
- GOFF, J. P.; SÁNCHEZ, J. M.; HORST, R. L. Hypocalcemia biological effects and strategies for prevention. In: MINERAL NUTRITION CONFERENCE, 2005, Tennessee. **Anais...** Knoxville: Department of Animal Science/University of Tennessee, 2005, p.5–10.
- GONÇALVES, J. L.; CUE, R. I.; NETTO, E. P. L.; GAMEIRO, A. H.; SANTOS, M. V. Impacto da mastite subclínica sobre o desempenho econômico de rebanhos leiteiros. In: VIII Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite, 2019, Lages, SC. **Anais...** ANAIS DO VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2019. p. 305-306.
- GONZÁLEZ, F. **Doze leituras em bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2018, 159p.
- GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2006.
- GRUMMER, R. R. Nutritional and management strategies for the prevention of fatty liver in dairy cattle. **The Veterinary Journal**, v.176, p.10-20, 2008.
- HAYIRLI, A., BERTICS, S. J., GRUMMER, R. R. Effects of slow release insulin on production, liver triglyceride and metabolic profiles of Holsteins in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.85, p. 2180–2191, 2002.
- HEUER, C.; SCHUKKEN, Y. H.; DOBBELAAR, P. Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 295–304, 1998.
- HUSNAIN, A., SANTOS, J. E. P. Meta-analysis of the effects of prepartum dietary protein on performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 102, p. 9791-9813, 2019.
- HUZZEY, J.M.; VIEIRA, D.M.; WEARY, D.M.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p.3220-3233, 2007.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. San Diego- California: Elsevier Academic Press, 2008.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. 3.ed. Santa Maria: UFSM, 2016, 212p.

LAGO, E. P.; PIRES, A. V.; SUSIN, I.; FARIA, V. P.; LAGO, L. A. Efeito da condição corporal ao parto sobre alguns parâmetros do metabolismo energético, produção de leite e incidência de doenças no pós-parto de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p. 1544-1549, 2001.

LAWTON, A.B.; BURHANS, W.S.; NYDAM, D.V.; TETREAUULT, M.; OVERTON, T.R. Northeast dairy herd characteristics: transition cow management strategies, performance, culling, and health. **Journal of Dairy Science**, v.94(5), p.585, 2016.

LEBLANC, S. J.; LESLIE, K.E.; DUFFIELD, T. F. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 159-170, 2005.

LENO, B. M.; RYAN, C. M.; STOKOL, T.; KIRK, D.; ZANZALARI, K. P.; CHAPMAN, J. D.; OVERTON, T. R. Effects of prepartum dietary cation-anion difference on aspects of peripartum mineral and energy metabolism and performance of multiparous Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 4604-4622, 2017.

LOPES, S. T. A.; BIONDO, A. W.; SANTOS, A. P. **Manual de Patologia Clínica Veterinária**. 3.ed. Santa Maria: UFSM/Departamento de Clínica de Pequenos Animais, 2007, 107p.

MANN, S.; LEAL YEPES, F. A.; OVERTON, T. R.; WAKSHLAG, J. J.; LOCK, A. L.; RYAN, C. M.; NYDAM, D. V. Dry period plane of energy: effects on feed intake, energy balance, milk production, and composition in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 3366-3382, 2015.

MÄNTYSAARI, P.; MÄNTYSAARI, E. A.; KOKKONEN, T.; MEHTIÖ, T.; KAJAVA, S.; GRELET, C.; LIDAUER, P.; LIDAUER, M. H. Body and milk traits as indicators of dairy cow energy status in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.102, p.7904-7916, 2019.

MCART, J. A. A.; NYDAM, D. V.; OETZEL, G. R. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 5056-5066, 2012.



MCART, J. A. A.; NYDAM, D. V.; OETZEL, G. R. Dry period and parturient predictors of early lactation hyperketonemia in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.96, p.198-209, 2013.

MCCARTHY, M. M.; YASUI, T.; RYAN, C. M.; MECHOR, G. D.; OVERTON, T. R. Performance of early-lactation dairy cows as affected by dietary starch and monensin supplementation. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 3335-3350, 2015a.

MCCARTHY, M.M.; YASUI, T.; RYAN, C.M.; MECHOR, G.D.; OVERTON, T.R. Metabolism of early lactation dairy cows as affected by dietary starch and monensin supplementation. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 1-15, 2015b.

MILKPOINT. **Levantamento Top 100 2019**. Disponível em <<https://www.milkpoint.com.br/top100-2019-lp/>>. Acesso em 22 abr. 2020.

MILKPOINT. **Levantamento Top 100 2020**. Disponível em <<https://www.milkpoint.com.br/top100-2020-lp/>>. Acesso em 22 abr. 2020.

MOALLEM, U.; KAMER, H.; HOD, A.; LIFSHITZ, L.; KRA, G.; JACOBY, S.; PORTNICK, Y.; ZACHUT, M. Reducing milking frequency from thrice to twice daily in early lactation improves the metabolic status of high-yielding dairy cows with only minor effects on yields. **Journal of Dairy Science**, v. 102, 9468-9480, 2019.

MORETTI, P.; PALTRINIERI, S.; TREVISI, E.; PROBO, M.; FERRARI, A.; MINUTI, A.; GIORDANO, A. Reference intervals for hematological and biochemical parameters, acute phase proteins and markers of oxidation in Holstein dairy cows around 3 and 30 days after calving. **Research in Veterinary Science**, v. 114, p. 322-331, 2017.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2011, 1274p.

NUTRIENT requirements of dairy cattle. 7.ed. Washington: National Research Council, 2001, 356p.

OBA, M.; ALLEN, M.S. Dose-response effects of intraruminal infusion of propionate on feeding behavior of lactating cows in early or mid-lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 2922-2931, 2003.

OSORIO, J.S; TREVISI, E.; JI, P.; DRACKLEY, J.K.; LUCHINI, D.; BERTONI, G.; 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, p.6248-6263, 2013.

OSPINA, P. A.; NYDAM, D. V.; STOKOL, T.; OVERTON, T. R. Associations of elevated nonesterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 1596-1603, 2010b.

OSPINA, P.A.; NYDAM, D.V.; STOKOL, T.; OVERTON, T.R. Evaluation of nonesterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 546-554, 2010a.

OVERTON, T. R.; WALDRON, M. R. Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 105-119, 2004.

PAIVA, C.A.V; RIBEIRO, L.G; TOMICH, T.R; POSSAS, F.P, Sistema de ordenha automático, **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, nº 79 - dezembro de 2015.

PINEDA, A.; CARDOSO, F. C. Technical note: Validation of a handheld meter for measuring  $\beta$ -hydroxybutyrate concentrations in plasma and serum from dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 8818-8824, 2015.

PINOTTI, L.; BALDI, A.; POLITIS, I.; REBUCCI, R.; SANGALLI, L.; DELL'ORTO, V. Rumen-protected choline administration to transition cows: effects on milk production and vitamin E status. **Journal of Veterinary Medicine**, v.50, p.18-21 2003.

PONCHEKI, J. K., HORST, J. A., SANTOS, G. T., LANNA, D. P. D., ALMEIDA, R. Perfil de ácidos graxos do leite no início da lactação: efeitos sobre produção, reprodução e sanidade. In: VIII Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite, 2019, Lages, SC. **Anais... ANAIS DO VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE**, 2019. p. 270-271.

RABELO, E.; CAMPOS, B.G. Fisiologia do período de transição. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 8., 2009, Belo Horizonte. **Anais... Belo Horizonte: CIÊNCIA ANIMAL BRASILEIRA**, 2009.

RABELO, E.; REZENDE, R. L.; BERTICS, S. J.; GRUMMER, R. R. Effects of transition diets varying in dietary energy density on lactation performance and

ruminal parameters of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 916-925, 2003.

REINHARDT, T. A.; LIPPOLIS, J. D.; MCCLUSKEY, B. J.; GOFF, J. P.; HORST, R. L. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. **The Veterinary Journal**, v. 188, p. 122-124, 2011.

ROCHE, J. R., FRIGGENS, N. C.; KAY, J. K.; FISHER, M. W.; STAFFORD, K. J.; BERRY, D. P. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 5769–5801, 2009.

ROCHE, J. R.; BELL, A. W.; OVERTON, T. R.; LOOR, J. J. Nutritional management of the transition cow in the 21st century – a paradigm shift in thinking. **Animal Production Science**, v. 53, p. 1000-1023, 2013.

RUPRECHTER, G.; ADRIEN, M. L.; LARRIESTRA, A.; MEOTTI, O.; BATISTA, C.; MEIKLE, A.; NORO M. Metabolic predictors of peri-partum diseases and their association with parity in dairy cows. **Research in Veterinary Science**, v. 118, p. 191-198, 2018.

SORDILLO, L. M.; RAPHAEL, W. Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders. **Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice**, v. 29, p. 267-278, 2013.

STEEN A.; GRONSTOL, H., TORJESEN, P. A. 1997. Glucose and insulin responses to glucagons injection in dairy cows with ketosis and fatty liver. **Zentralbl Veterinarmed A**, v.44, p. 521–530, 1997.

TAO, S.; DAHL, G. E. Invited review: heat stress effects during late gestation on dry cows and their calves. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 1-15, 2013.

TONI, F.; VINCENTI, L.; GRIGOLETTO, L.; RICCI, A.; SCHUKKEN, Y. H. Early lactation ratio of fat and protein percentage in milk is associated with health, milk production, and survival. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.1772-1783, 2011.

TREVISI, E.; AMADORI, M.; COGROSSI, S.; RAZZUOLI, E.; BERTONI, G. Metabolic stress and inflammatory response in high-yielding periparturient dairy cows. **Research in Veterinary Science**, v. 93, p. 695–704, 2012.

TRINDADE, F.; PERAZZOLI, L.; MENDES, B. P.; KNOB, D. A.; NETO, A. T. Produção e qualidade do leite em sistemas de produção confinados e semi-confinado. In: VIII Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite, 2019, Lages, SC.

**Anais...** ANAIS DO VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2019. p. 114-115.

VALLDECABRES, A.; PIRES, J. A. A.; SILVA-DEL-RÍO, N. Effect of prophylactic oral calcium supplementation on postpartum mineral status and markers of energy balance of multiparous Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, v.101, p.4460-4472, 2018.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3583-3597, 1991.

WEBER, C.; HAMETNER, C.; TUCHSCHERER, A.; LOSAND, B.; KANITZ, E.; OTTEN, W.; SINGH, S. P.; BRUCKMAIER, R. M.; BECKER, F.; KANITZ, W.; HAMMON, H. M. Variation in fat mobilization during early lactation differently affects feed intake, body condition, and lipid and glucose metabolism in high-yielding dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 165-180, 2013.

WEBER, C.; SCHAFF, C.T.; KAUTZSCH, U.; BORNER, S.; ERDMANN, S.; GORS, S.; RONTGEN, M.; SAUERWEIN, H.; BRUCKMAIER, R.M.; METGES, C.C.; KUHLA, B.; HAMMON, H.M. Insulin-dependent glucose metabolism in dairy cows with variable fat mobilization around calving. **Journal of Dairy Science**, v.99, p.1-15, 2016.

WHITE, R. R.; HALL, M. B.; FIRKINS, J.; KONONOFF, P. J. Physically adjusted neutral detergent fiber system for lactating dairy cow rations. I: Deriving equations that identify factors that influence effectiveness of fiber. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 1-18, 2017.

ZEBELI, Q.; ASCHENBACH, J. R.; TAJAJ, M.; BOGUHN, J.; AMETAJ, B. N.; DROCHNER, W. Invited review: role of physically effective fiber and estimation of dietary fiber adequacy in high-producing dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 95, v. 1041-1056, 2012.

ZENOBI, M.G., GARDINAL, R., ZUNIGA, J.E., DIAS, A.L.G.; NELSON, C.D.; DRIVER, J.P.; BARTON, B.A.; SANTOS, J.E.P; STAPLES, C.R. Effects of supplementation with ruminally protected choline on performance of multiparous Holstein cows did not depend upon prepartum caloric intake. **Journal of Dairy Science**, v.101, p.1-23, 2018.

ZHOU, Z.; LOOR, J. J.; PICCIOLI-CAPPELLI, F.; LIBRANDI, F.; LOBLEY, G. E.; TREVISI, E. Circulating amino acids during the peripartal period in cows with different liver functionality index. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 1-11, 2016.

## ANEXO 1 – PROTOCOLO DE APROVAÇÃO NA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DA UFPR



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo número 042/2019, referente ao projeto “Caracterização do período de transição de fazendas leiteiras da região dos Campos Gerais do Paraná”, sob a responsabilidade Rodrigo de Almeida – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro, de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - BRASIL, com grau 2 de invasividade, em reunião de 07/08/2019.

Vigência do projeto	Agosto/2019 até Setembro/2019
Espécie/Linhagem	<i>Bos taurus</i> (bovino)/Holandês
Número de animais	1200
Peso/Idade	550 – 750 kg/20 – 96 meses
Sexo	Fêmea
Origem	Fazendas comerciais em Castro, Arapoti e Carambei, Paraná, Brasil.

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 042/2019, regarding the project “Characterization of the transition period of dairy farms in the region of Campos Gerais, Paraná” under Rodrigo de Almeida supervision – which includes the production, maintenance and/or utilization of animals from Chordata phylum, Vertebrata subphylum (except Humans), for scientific or teaching purposes – is in accordance with the precepts of Law nº 11.794, of 8 October, 2008, of Decree nº 6.899, of 15 July, 2009, and with the edited rules from Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), and it was approved by the ANIMAL USE ETHICS COMMITTEE OF THE AGRICULTURAL SCIENCES CAMPUS OF THE UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (Federal University of the State of Paraná, Brazil), with degree 2 of invasiveness, in session of 07/08/2019.

Duration of the project	August/2019 until September/2019
Specie/Line	<i>Bos taurus</i> (bovino)/Holstein
Number of animals	1200
Wheight/Age	550 – 750 kg/20 – 96 months
Sex	Female
Origin	Commercial farms in Castro, Arapoti and Carambei, Paraná, Brazil.

Curitiba, 07 de agosto de 2019

*Chayane da Rocha*

Chayane da Rocha

**Coordenadora CEUA-SCA**