

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**PLANOS NUTRICIONAIS SOBRE O CONSUMO, O COMPORTAMENTO E
SAÚDE DE VACAS LEITEIRAS DE DIFERENTES COMPOSIÇÕES RACIAIS
DURANTE O PERÍODO DE TRANSIÇÃO**

SHEILA CRISTINA BOSCO STIVANIN

Zootecnista – UFSM/CESNORS
Mestre em Zootecnia - UFSM

Tese apresentada como um dos requisitos para a obtenção do grau de Doutor
em Zootecnia
Área de Concentração em Produção Animal

Porto Alegre (RS), Brasil
Março de 2018.

CIP - Catalogação na Publicação

Bosco Stivanin, Sheila Cristina
PLANOS NUTRICIONAIS SOBRE O CONSUMO, O
COMPORTAMENTO E SAÚDE DE VACAS LEITEIRAS DE
DIFERENTES COMPOSIÇÕES RACIAIS DURANTE O PERÍODO DE
TRANSIÇÃO / Sheila Cristina Bosco Stivanin. -- 2018.
135 f.
Orientador: Vivian Fischer.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. Comportamento. 2. Extratos de plantas. 3.
Período de transição. 4. Saúde. I. Fischer, Vivian,
orient. II. Título.

Stella Cristina Bosco Stivanin
Zootecnista E Mestre Em Zootecnia

TESE

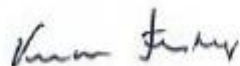
Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

DOUTORA EM ZOOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovada em: 29.03.2018
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 18/04/2018
Por



VIVIAN FISCHER
PPG Zootecnia/UFRGS
Orientador



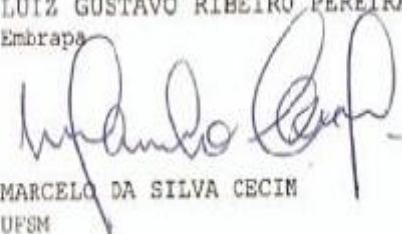
DANILO PEDRO STREIT JR.
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia



MARCELO TEMPEL STUMPF
FURG



LUIZ GUSTAVO RIBEIRO PEREIRA
Embrapa



MARCELO DA SILVA CECIM
UFSM



CARLOS ALBERTO BISSANI
Diretor da Faculdade de Agronomia

Aos meus pais Marli e Narciso que dignamente me apresentaram a importância da família e o caminho da honestidade e persistência.

Ao meu amor Gustavo por todo o carinho, por ter permanecido ao meu lado, por compartilhar angústias e dúvidas e pelo apoio incondicional em todos os momentos, inclusive os de incerteza.

Sem vocês nenhuma conquista valeria a pena.

E por isso dedico esse trabalho a vocês.

AGRADECIMENTOS

A realização dessa defesa de doutorado marca o fim de uma importante etapa da minha vida por isso, agradecer a Deus em primeiro lugar, é uma forma de dizer a ele que sempre vamos precisar de suas mãos para conquistar outras coisas mais, por isso sou grata a ele por ter me permitido lutar e alcançar meus objetivos.

Agradeço a toda a minha família que de diferentes formas auxiliaram em meu trabalho, em especial a minha mãe Marli e meu padrasto Narciso que sempre me apoiaram em todas as decisões.

Agradeço ao meu noivo Gustavo pelo amor, paciência nos dias de estresse, pelos conselhos e pelo companheirismo, que sempre esteve presente ao longo de todos esses anos e outros mais.

A professora Vivian, pela paciência e pelos valiosos conselhos e todos os ensinamentos transmitidos ao longo desses quatro anos de convivência.

As irmãs que a vida colocou em meu caminho (Vivi e Lidi) pelo companheirismo, aprendizado nos últimos 10 anos de nossas vidas e pelo auxílio de sempre mesmo não participando efetivamente desse projeto. Com certeza o apoio de vocês tem grande participação nessa e em muitas outras conquistas.

A minha amiga Elissa por ter compartilhado comigo talvez o que podemos chamar de “momentos mais difíceis” durante toda a maratona de experimentos. Obrigada pelo companheirismo, ensinamentos e por me ajudar a percorrer esse período com mais leveza. Sem dúvida formamos uma bela equipe.

A Micheli pelo carinho e amizade de sempre e por todo o apoio durante a condução do trabalho. Tenho certeza que és mais uma irmã que a vida colocou em meu caminho, pode contar comigo sempre.

A todos os colegas do NUPLAC, pela compreensão e principalmente pelo apoio durante a condução dos experimentos.

A UFRGS, pela formação acadêmica. Ao CNPq, pelos recursos concedidos. Aos professores do PPGZ, pelos ensinamentos. À EMBRAPA por ter aberto as portas para a nossa pesquisa e aos pesquisadores Maira Balbinotti Zanela e Luiz Gustavo Ribeiro Pereira por ter nos acolhido e por todo o conhecimento transmitido.

A todos que contribuíram para meu conhecimento e crescimento pessoal e que de alguma forma ajudaram pra que eu pudesse concluir mais essa etapa quero dizer que a vida não se coloca em análise de regressão e não é pelo valor p que descobrimos a significância das pessoas na nossa trajetória. Meu agradecimento sincero: Muito obrigada!

PLANOS NUTRICIONAIS SOBRE O CONSUMO, O COMPORTAMENTO E SAÚDE DE VACAS LEITEIRAS DE DIFERENTES COMPOSIÇÕES RACIAIS DURANTE O PERÍODO DE TRANSIÇÃO¹

Autor: Sheila Cristina Bosco Stivanin

Orientador: Dra. Vivian Fischer

Resumo: Dois experimentos foram realizados para avaliar o efeito de diferentes planos nutricionais sobre o consumo, comportamento alimentar e social e o estado de saúde de vacas leiteiras de diferentes composições raciais durante o período de transição. No primeiro experimento foi avaliada a inclusão ou não (CON) de 10 g/dia de extrato de orégano (EO) (*Origanum vulgare*) ou de 5 g/dia de extrato de chá verde (ECV) (*Camellia sinensis* L.) na dieta fornecida a 24 vacas Jersey com PC de 441 ± 27 kg, $3,5 \pm 0,3$ pontos de ECC e com $2,7 \pm 1,8$ lactações. As vacas que receberam EO tenderam a consumir mais em relação às CON após o parto. Antes do parto, as vacas EO tenderam a gastar menos tempo em decúbito e a consumir o concentrado em menos tempo em relação às ECV. Após o parto o EO diminuiu o tempo de consumo de concentrado em relação ao CON e ECV. O número de visitas totais ao cocho foi menor quando EO foi utilizado em relação ao CON e ECV, mas as vacas que consumiram ECV visitaram mais vezes o cocho com alimentação e tenderam a interagir menos em relação às vacas que consumiram EO. O uso dos extratos de planta não influenciou a ocorrência de doenças e distúrbios metabólicos. No segundo experimento, 36 vacas nulíparas Holandês, Gir e Girolando F1 ($\frac{1}{2}$ Holandês e $\frac{1}{2}$ Gir), com PC de $715 \pm 64,5$ kg, $4,2 \pm 0,3$ pontos de ECC e com $4,1 \pm 0,4$ anos de idade foram distribuídas (6 vacas de cada composição racial) em dois planos nutricionais com oferta de 1,89 % do PC ou 1,69 % do PC de alimento (base na matéria seca) durante o pré parto. O consumo de MS foi mais alto no pré e no pós parto para as vacas Holandês em relação às demais e foi mais alto em alguns dias próximos ao parto para o plano de 1,69% em relação ao plano de 1,89%. Antes do parto as vacas do plano 1,69% permaneceram mais tempo no cocho e tenderam a gastar mais tempo no cocho com alimentação em relação às do plano 1,89%. As vacas Holandesas tenderam a permanecer mais tempo em cada visita com alimentação ao cocho e consumiram mais em cada visita em relação às demais tanto antes quanto após o parto. A ocorrência de doenças e distúrbios metabólicos não foi influenciada pelos planos nutricionais, mas as vacas Holandesas apresentaram maior ocorrência de distocia e doenças clínicas em relação às demais. Os planos nutricionais modificaram as atividades alimentares e, o comportamento social durante o período de transição. A adoção de diferentes planos nutricionais durante o período de transição modificam aspectos do comportamento de vacas leiteiras e o consumo sem influenciar a ocorrência de doenças.

Palavras-chave: extratos de plantas, Gir, Girolando, Holandês, Jersey, período de transição, saúde

¹ Tese de Doutorado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil (136p.), março de 2018.

NUTRITIONAL PLANS ON THE INTAKE, BEHAVIOR AND THE HEALTH STATUS OF DAIRY COWS OF DIFFERENT RACIAL COMPOSITIONS DURING THE TRANSITION PERIOD¹

Author: Sheila Cristina Bosco Stivanin

Adviser: Dra. Vivian Fischer

Abstract: Two experiments were carried to evaluate the effect of different nutritional plans on the DM intake, ingestive and social behavior and health status of dairy cows from different racial compositions during the transition period. In the first trial we evaluated the inclusion or not (CON) of 10 g / day of oregano (OE) extract (*Origanum vulgare*) or 5 g / day of green tea extract (GT) (*Camellia sinensis* L.) in the diet provided to 24 Jersey cows with BW of 441 ± 27 kg, 3.5 ± 0.3 points of BCS and with 2.7 ± 1.8 lactations. Cows that received OE tended to consume more than CON after calving. Before calving, cows OE tended to spend less time in decubitus and to ingest the concentrate in less time than GT. After calving, OE caused faster concentrate intake in relation to CON and GT. After calving, the number of total visits to the trough was lower when OE was used in relation to CON and GT, but cows that ingested GT visited the trough with feeding activity more often and tended to interact less in relation to cows that ingested EO. The use of the extracts did not influence the occurrence of diseases and metabolic disorders. In the second trial, 36 Holstein, Gir and Gyrolando F1 ($\frac{1}{2}$ Holstein and $\frac{1}{2}$ Gir) nulliparous cows, with BW of 715 ± 64.5 kg, 4.2 ± 0.3 points of BCS and with 4.1 ± 0.4 years of age were distributed (6 cows from each racial composition) in two nutritional plans with allowance of 1.89% or 1.69% of BW of feed (based on dry meter) during pre calving period. Dry matter intake was higher in pre and post calving for Holstein cows than the others, and it was higher in some days near the calving for 1.69% plan compared with 1.89% plan. Before calving, cows the 1.69% plan remained longer in the trough and tended to spend longer at the trough with feeding activity in relation to 1.89% plan. Holstein cows tended to stay longer in each visit with feeding at the trough and ingested more at each visit than the others before and after calving. The occurrence of diseases and metabolic disorders was not influenced by the nutritional plans but the Holstein cows showed more dystocia and clinical diseases compared to the others. Nutritional plans change the way the animals distributed their feed activities and influenced social behavior. The adoption of different nutritional plans during the period of transition modify aspects of dairy cow's behavior and intake without affecting the occurrence of diseases.

Key-words: plant extracts, Gyr, Gyrolando, Holstein, Jersey, transition period, health

¹Doctoral Thesis in Animal Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil (136p.), March, 2018

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	12
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1. Período de transição em vacas leiteiras.....	14
2.2. Planos nutricionais	18
2.3. Extratos de plantas na alimentação animal	21
2.3.1. Extrato de orégano.....	22
2.3.2. Extrato de chá verde	26
2.4. Influências genéticas.....	29
2.5. Comportamento alimentar e social.....	32
3. HIPÓTESES E OBJETIVOS.....	38
CAPÍTULO II.....	40
.....	80
CAPÍTULO III.....	80
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	116
REFERÊNCIAS	118
VITA.....	135

Lista de Tabelas

	Página
Capítulo I	
Tabela1. Composição qualitativa e quantitativa dos óleos essenciais presentes no orégano (<i>Origanum vulgare</i>).....	22
Capítulo II	
Table 1. Mean and amplitude of air temperature (°C), relative air humidity (%), wind speed (km / h) and precipitation (mm / day) during the experimental period.....	68
Table 2. Ingredients and chemical composition of the diets fed to the cows during the transition period.....	69
Table 3. Ethogram describing the evaluated behavioral activities..	70
Table 4. Means for body weight and body condition score (BCS) of cows fed control (CON), oregano extract (OE) and green tea extract (GT) during the transition period.....	72
Table 5. Means for dry matter intake and feeding behavior during pre calving cows fed control diet (CON), containing oregano extract (OE) or green tea extract (GT).....	73
Table 6. Means for dry matter intake and feeding behavior during post calving cows fed control diet (CON) or diets containing oregano extract (OE) and green tea extract (GT).....	74
Table 7. Means for social behavior during pre calving cows fed a control diet (CON) or diets containing oregano extract (OE) and green tea extract (GT).....	75
Capítulo III	
Table 1. Mean and amplitude of air temperature (°C), relative air humidity (%), wind speed (km / h) and precipitation (mm / day) during the experimental period.....	105
Table 2. Chemical composition of experimental TMR in pre and post calving.....	106
Table 3. Body weight, body condition score (BCS) and their variation in the transition period for cows from different racial compositions fed 1.89% or 1.69% of BW during the pre calving.....	107
Table 4. Dry matter intake (DMI) and feeding behavior in the transition period of cows from different racial compositions fed 1.89% or 1.69% of BW during pre calving.....	108
Table 5. Behavioral attributes in the transition period of cows from different racial compositions fed 1.89% or 1.69% of BW during pre calving.....	110

Table 6.	Probability of occurrence of metabolic disorders and infectious diseases according to racial compositions and nutritional plans during the pre calving period.....	112
----------	--	-----

Lista de Figuras

	Página
Capítulo I	
Figura 1. Estrutura molecular do timol (a) e do carvacrol (b).....	23
Figura 2. Estrutura química das principais catequinas do chá verde.....	27
Capítulo II	
Figure 1. Body condition score (BCS) of Jersey cows fed diets without (CON) or with green tea (GT) and oregano extracts (OE) during the transition period.....	77
Figure 2. Dry matter intake (DMI) of Jersey cows fed diets without (CON) or with green tea (GT) and oregano extracts (OE) during the transition period.....	78
Figure 3. Frequency of Jersey cows affected by metabolic disorders and infectious diseases fed diets without (CON) or with green tea (GT) or oregano extracts (OE) during the transition period.....	79
Capítulo III	
Figure 1. Body condition score (BCS) of Holstein (H), Gyr (G) and Gyrolando F1 (GH) during the transition period.....	113
Figure 2. Dry matter intake (DMI, expressed as % of BW) Holstein (H), Gyr (G) and Gyrolando F1 (GH) dairy cows fed 1.69 and 1.89% of BW during pre calving according to nutritional plans (A) and racial compositions (B) in the transition period.....	114
Figure 3. Total time spent in the feed trough during post calving according to the nutritional plans (1.69 and 1.89% of BW) and racial compositions	115

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ADF: acid detergent fiber
AGNE: ácidos graxos não esterificados
AGV: ácidos graxos voláteis
ATP: adenosina trifosfato
BCS: body condition score
BHBA: β -hidroxibutirato
BIC: critério de informação bayesiano
BW: body weight
CAT: catalase
CIR: concentrate intake rate
CMS: consumo de matéria seca
CoA: coenzima A
CON: controle
CP: crude protein
CPT-1: carnitina palmitoiltransferase
DM: dry matter
DMI: dry matter intake
DMIVD: dry matter in vitro digestibility
ECC: escore de condição corporal
ECM: energy corrected milk
ECV: extrato de chá verde
EL: energia líquida
EO: extrato de orégano
FDMI: forage dry matter intake
FP: fecal production
G: Gyr
GH: Gyrolando F1 ($\frac{1}{2}$ Holstein and $\frac{1}{2}$ Gyr)
GH: hormônio do crescimento
GHR: receptor do hormônio do crescimento
GPx: glutathione peroxidase
GT: green tea extract
H: Holstein
IGF-1: fator de crescimento semelhante a insulina
MS: matéria seca
NDF: neutral detergent fiber
OE: oregano extract
PC: peso corporal
SEM: standard error of the mean
SIR: silage intake rate
SOD: superóxido dismutase
TCA: ácido tricarbóxico
TDMI: total dry matter intake
TMR: total mix ration
TNF- α : fator de necrose tumoral

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

Em sistemas de produção de leite, a intensa seleção genética juntamente com melhorias na nutrição e no manejo tem propiciado aumentos substanciais da produção. De forma concomitante, no entanto cresceram as preocupações com o aumento de problemas na saúde e reprodução do rebanho (Ingvarsten, 2006). O período de transição, que compreende as três semanas antes e as três semanas após o parto (Drackley, 1999) é a fase quando as vacas leiteiras, especialmente as de alta produção, estão mais suscetíveis a sofrer com distúrbios metabólicos e doenças infecciosas (Trevisi et al., 2012).

Durante a transição, alterações fisiológicas e metabólicas como redução nos níveis de glicose e insulina (Sordillo & Raphael, 2013), aumento na concentração de hormônio do crescimento (GH) com consequente desacoplamento do eixo somatotrópico (Lucy et al., 2009), aumento nas concentrações de estrógeno e prolactina (Grummer, 1995), glicocorticoides e catecolaminas (Weber et al., 2001), e redução na progesterona (Grummer, 1995) ocorrem com a finalidade de sustentar a gestação e, depois, garantir o início da lactação. Todas essas alterações têm ação direta sobre o sistema imunológico do animal, estimulando a lipólise do tecido adiposo, e são as principais causas da redução do consumo de matéria seca observado antes do parto, predispondo os animais ao balanço energético negativo e à infecções e distúrbios metabólicos (Sordillo et al., 2009; Roche et al., 2013; Drackley & Cardoso, 2014).

A utilização de aditivos alimentares naturais pode ser estratégia nutricional para reduzir os efeitos do balanço energético negativo e estimular o sistema imunológico. Nos últimos anos, a preocupação tanto com a saúde da população quanto com o bem estar dos animais vem estimulando o uso de extratos de plantas na dieta dos animais, tornando o uso desses aditivos naturais uma prática comum nas fazendas leiteiras modernas (Maciej et al., 2016).

As plantas de orégano e de chá verde produzem metabolitos secundários (óleos essenciais e polifenóis, respectivamente) que agem como antidepressivos (Zotti et al., 2013; Mirza et al., 2013) capazes de modificar o comportamento dos animais (Gabbi et al., 2009b; Kolling et al., 2016; Lejonklev et al., 2016), estimulantes do sistema imunológico e antioxidantes (Gabbi et al., 2009a; Gonçalves et al., 2015), além de agirem como antibacterianos, capazes de modular a fermentação ruminal, reduzindo a produção de metano e melhorando a eficiência alimentar (Cobellis et al., 2016; Oh & Hristov et al., 2016; Kolling et al., 2018).

Respostas comportamentais de ruminantes recebendo diferentes extratos de plantas foram avaliadas em alguns estudos (Gabbi et al., 2009b; Kolling et al., 2016), assim como os efeitos de extratos de plantas sobre o sistema imunológico (Gladine et al., 2007; Gabbi et al., 2009a). Porém, além dessas informações não estarem disponíveis para vacas leiteiras que recebem extrato de orégano e de chá verde durante o período de transição, o potencial desses extratos em reduzir a ocorrência de distúrbios metabólicos e doenças infecciosas na fase mais desafiadora do processo de produção leiteira ainda não foi explorado.

Ajustes nutricionais que apoiem as adaptações metabólicas vivenciadas pelo animal durante a transição podem melhorar sua longevidade, eficiência reprodutiva e produtiva, bem como o bem estar (Overton & Waldron, 2004; Roche et al., 2013). O fornecimento de dietas que proporcionem uma adequada ingestão de energia, alimentando para atender sem exceder as necessidades nutricionais, principalmente durante os últimos 21 dias de gestação, tem se mostrado eficiente em reduzir os efeitos do balanço energético negativo, em estimular o consumo de matéria seca e melhorar o estado imunológico após o parto de vacas leiteiras taurinas (Douglas et al., 2006; Dann et al., 2006; Graugnard et al., 2012). De mesma forma a adequação do aporte nutricional pode reduzir a deposição de gordura corporal e o acúmulo de gordura na glândula mamária, e evitar redução no consumo de matéria seca no final da gestação em vacas cruzadas Holandês x Gir (Rotta et al., 2015a & 2015b).

Diferentes condições alimentares também são capazes de modificar os atributos do comportamento normal, o qual vem sendo utilizado como um indicador do estado físico e fisiológico dos animais (Huzzey et al., 2007; Garro et al., 2014), especialmente durante períodos de grande desafio, como o período de transição. Assim, a avaliação comportamental pode contribuir para o estabelecimento de práticas de manejo que promovam melhor conforto, melhorem a produtividade e propiciem maior retorno econômico nos sistemas de produção.

Os efeitos do uso de dietas com controle da oferta de alimentos durante o pré parto foram estudados principalmente em vacas *Bos taurus taurus* e em animais da raça Holandês (Douglas et al., 2006; Janovick & Drackley, 2010; Drackley & Cardoso, 2014), sendo escassas as informações de como o uso de planos nutricionais distintos no pré parto interferem o metabolismo de vacas zebuínas e cruzados (Rotta et al., 2015a & 2015b). Além disso, de nosso conhecimento, não há estudos que mostrem o impacto dessas dietas sobre o comportamento ingestivo e social durante a transição assim como seu efeito sobre a ocorrência de doenças e distúrbios metabólicos em diferentes grupos genéticos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Período de transição em vacas leiteiras

O período seco, que compreende os últimos 60 dias de gestação (Dann et al., 2006; Douglas et al., 2006; Cardoso et al., 2013), é uma fase muito importante do ciclo de lactação de vacas leiteiras, pois é nesse tempo que a involução e regeneração do tecido mamário, a maturação fetal e a reconstituição das reservas corporais ocorrem em preparação ao início de uma nova lactação. O período que compreende os últimos 21 dias do período seco e os primeiros 21 dias de lactação é chamado de transição (Drackley, 1999), quando as vacas leiteiras, em especial as de alta produção, estão expostas a muitas alterações metabólicas e fisiológicas que ocorrem com a finalidade de sustentar a gestação, preparar para a parição e depois garantir o início da lactação.

O processo adaptativo de transição do final da gestação para o início de uma nova lactação é homeorrético que, de acordo com Bauman & Currie (1980), compreende as mudanças no metabolismo de tecidos corporais necessárias para dar suporte a um determinado status fisiológico. Logo após o parto, o rápido aumento na produção de leite desvia quase toda a glicose para a síntese de lactose na glândula mamária em um momento em que o consumo de matéria seca (CMS) não atingiu seu máximo, com drástica redução na concentração plasmática de glicose e, conseqüentemente, de insulina (Sordillo & Raphael, 2013). Por isso, as adaptações homeorréticas primárias que ocorrem nas vacas leiteiras para atender e direcionar as necessidades de glicose incluem o aumento da gliconeogênese hepática (Drackley et al., 2005), a diminuição na oxidação da glicose por tecidos periféricos como o tecido muscular e adiposo e o aumento da mobilização de tecidos corporais principalmente pela lipólise (Reynolds et al., 2003).

O ácido graxo volátil (AGV) propionato, produzido no rúmen, é o precursor mais importante para a gliconeogênese hepática (De Koster & Opsomer, 2013) e a glicose liberada pelo fígado é o principal contribuinte para a concentração de glicose sanguínea e o combustível essencial para o útero gravídico e para a glândula mamária de uma vaca em lactação. O controle da gliconeogênese e da lipólise bem como da utilização da glicose pelos tecidos é mediada pela insulina (De Koster & Opsomer, 2013), mas a glândula mamária independe da insulina para utilização de glicose (Bauman, 2000), e por isso, a fim de conservar a glicose para síntese de lactose, as vacas leiteiras em início de lactação também desenvolvem um certo grau de resistência à insulina, manifestada como insensibilidade à insulina manifestada pelas células nos tecidos dependentes como o muscular e adiposo (Janovick et al., 2011).

O controle da partição de nutrientes em vacas leiteiras no início da lactação depende do estado em que se encontra o eixo somatotrófico, o qual é essencial para a produção de leite (Bauman & Currie, 1980). Esse importante eixo é constituído pelo GH, pelo receptor do GH (GHR), pelo fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) e pelas proteínas ligadoras de IGF-1 (Lucy et al., 2001). O GH, secretado pela adeno-hipófise, tem ação mediada pelo GHR encontrado em abundância no fígado e tecido adiposo (Lucy, 2008). No fígado, o GH tem função de aumentar a síntese e secreção de IGF-1 (Hafez & Hafez, 2004) o qual age como hormônio endócrino que controla a secreção de GH por meio de sistema de *feedback* negativo (Le Roith et al., 2001), ou seja, quanto maior a secreção de IGF-1, menor será a secreção de GH pela adeno-hipófise.

Este eixo de sinalização metabólica normalmente se encontra desacoplado em vacas leiteiras, especialmente as de alta produção, no início da lactação com o objetivo de dirigir a energia para a glândula mamária (Leroy et al., 2008) e pode ser considerado como uma adaptação da evolução dos mamíferos para garantir que os nutrientes sejam fornecidos ao neonato pelo leite (Bauman & Currie, 1980). A consequência desse desacoplamento que ocorre aproximadamente dois dias antes do parto e permanece até a segunda semana pós-parto, é a reduzida expressão de mRNA para GHR no fígado, o qual não consegue responder ao GH e produzir quantidades suficientes de IGF-1 (Lucy, 2008; Lucy et al., 2009). Quando o IGF-1 permanece em baixa concentração, estimula o acúmulo de GH devido à menor ação do *feedback* negativo (Lucy et

al., 2001; Lucy, 2008; Lucy et al., 2009). A insulina também tem função de estimular a expressão de GHR no fígado e, por isso, a baixa liberação desse hormônio pelo pâncreas que acontece nas vacas após o parto devido à reduzida concentração plasmática de glicose, é outro fator que contribui para o acúmulo de GH, com consequente manutenção do desacoplamento do eixo somatotrófico (Butler et al., 2003). No tecido adiposo, o acúmulo de GH estimula a lipólise, impede a lipogênese e bloqueia a captação da glicose já que esse tecido é dependente da insulina. No fígado, o acúmulo do GH durante o período pós parto estimula o aumento da gliconeogênese, objetivando atender a demanda de glicose pela glândula mamária para a síntese de lactose. Dessa forma, o aumento da concentração de GH direciona os nutrientes para a glândula mamária e para a produção de leite (Buckley et al., 2003). Assim, enquanto o balanço energético negativo não for amenizado e as concentrações de insulina reestabelecidas, o desacoplamento do eixo somatotrófico é mantido (Butler et al., 2003).

Logo após o parto, vacas de mais alto mérito genético produzem mais leite e conseqüentemente necessitam de maiores concentrações de glicose disponíveis na glândula mamária ao mesmo tempo que o CMS não alcançou seu máximo. Esse descompasso entre o aumento da produção leiteira e o consumo ocasiona o balanço energético negativo mais severo e, conseqüentemente, a manutenção do desacoplamento do eixo somatotrófico com acúmulo de GH. O fato do GH facilitar a lipólise durante o começo da lactação e direcionar os nutrientes para produção de leite explica porque as vacas de alto mérito genético para produção de leite perdem escore de condição corporal (ECC) de forma mais acentuada comparadas com vacas de menor mérito genético (Buckley et al., 2003; Roche et al., 2006; MacDonald et al., 2008; Lucy et al., 2009).

Todas as alterações fisiológicas e metabólicas mencionadas até agora somadas com o aumento nas concentrações de estrógeno e redução na concentração de progesterona e com a modificação da expressão dos receptores de glicocorticoides ao redor do parto, estimulam a lipólise (Grummer, 1995; Weber et al., 2001) e são as principais responsáveis pela redução na capacidade de consumo e conseqüentemente no desenvolvimento do balanço energético negativo pelas vacas em transição (Drackley et al., 2005; Allen et al., 2009). A capacidade de consumo de vacas pode diminuir 10 a 30% nas três últimas semanas de gestação em comparação com o início do período seco (Drackley et al., 2005), o que impacta negativamente na quantidade ingerida após o parto (Drackley, 1999), na severidade do balanço energético negativo e, conseqüentemente, no metabolismo lipídico, resultando no aumento da mobilização de reservas corporais com acúmulo de ácidos graxos não esterificados (AGNE) na corrente sanguínea (Drackley, 1999), perda de peso, depressão do sistema imunológico e aumento da ocorrência de doenças metabólicas e infecciosas após o parto (Sordillo et al., 2009; Trevisi et al., 2012; Roche et al., 2013; Drackley & Cardoso, 2014). As chances de ocorrência de metrite após o parto, por exemplo, aumentam 2,9 vezes para cada kg de matéria seca a menos ingerido durante a semana antes do parto (Huzzey et al., 2007). Por isso, o final do período seco e o início da lactação são os momentos mais adequados para prevenção de distúrbios metabólicos por meio da manipulação da dieta e medidas adequadas de manejo.

No metabolismo lipídico de vacas em balanço energético negativo, a adaptação primária é a mobilização das reservas de gordura corporal para atender às necessidades energéticas (Overton & Waldron, 2004). Durante a lipólise, a ação da lipase hormônio-sensível cliva moléculas de triglicerídeos em AGNE, os quais são transportados para o sangue, onde podem ser usados como fonte de energia e, também, iniciar ciclos de feedback negativo para regular a extensão da lipólise (Sordillo & Raphael, 2013). De acordo com esses autores, as vacas se adaptam com sucesso ao balanço energético negativo quando a mobilização adiposa é adequadamente regulada e a liberação de AGNE está limitada a concentrações que podem ser totalmente metabolizadas. No entanto, quando os AGNE se acumulam no plasma, os mesmos podem interferir nas reações de feedback através da expressão aumentada do fator de necrose tumoral (TNF- α) e modificar a atividade da lipase.

Pela corrente sanguínea os AGNE alcançam o fígado, onde podem ser completamente oxidados à acetil-coenzima A (CoA) na via da β -oxidação, sendo subsequentemente convertidos a CO₂ no ciclo do ácido tricarbóxico (TCA) mitocondrial; os AGNE também podem sofrer β -oxidação incompleta formando corpos cetônicos como acetoacetato, ácido beta-hidroxibutírico (BHBA) e acetona, os quais são liberados na circulação sanguínea ou podem ser reesterificados e depositados no fígado na forma de triglicerídeo ou ainda exportados pelas lipoproteínas de muito baixa densidade para órgãos extra hepáticos (Drackley et al., 2005; Kuhla et al., 2016).

O fígado de vacas no início da lactação apresenta capacidade limitada de oxidação dos AGNE nas mitocôndrias devido à baixa disponibilidade de oxaloacetato que nessa fase é extensivamente utilizado no processo de gliconeogênese (Bobe et al., 2004). A redução na disponibilidade de oxaloacetato para a reação com acetil CoA resulta em concentrações aumentadas de acetil CoA durante a β -oxidação mitocondrial, com consequente exportação em corpos cetônicos, principalmente o BHBA, que é frequentemente usado para avaliar o grau de balanço energético negativo e mobilização lipídica em vacas leiteiras durante o período de transição (Sordillo & Raphael, 2013).

O sistema de controle endócrino do consumo é altamente sensível e responsivo à sobrecarga de ácidos graxos; assim, a quantidade de lipídios, independentemente de ser ingerida com a dieta, armazenada em tecido adiposo e muscular ou mobilizada e liberada em circulação, desempenha um papel fundamental no controle do consumo de alimentos, do equilíbrio energético e da partição de nutrientes à glândula mamária (Kuhla et al., 2016). Além disso, a mobilização excessiva de lipídeos do tecido adiposo está ligada a maiores incidências de problemas de saúde no período de transição. Taxas extremas de mobilização lipídica (excedendo 1000 μ M) levam ao aumento da absorção de AGNE pelo fígado e aumento na deposição de triglicerídeos, podendo resultar na síndrome de lipidose hepática ou fígado gordo (Drackley, 1999), além de ocasionar aumento da produção de corpos cetônicos, o que pode resultar em cetose clínica ou subclínica (Drackley et al., 2001).

Além das adaptações no metabolismo clássico, as vacas leiteiras em transição também passam por um período de capacidade imunológica reduzida (Overton & Waldron, 2004), com redução do número e da eficácia das células imunológicas no sangue (Nonnecke et al., 2003). A inflamação aguda ou

subaguda é uma resposta conservada evolutivamente subjacente a muitos processos fisiológicos e patológicos, e ajuda o corpo a se adaptar e superar estímulos adversos, com o objetivo de restaurar a homeostase (Bradford et al., 2015). Em resposta aos processos inflamatórios, o organismo aumenta a expressão e liberação de mediadores incluindo citocinas, quimiosinas, moléculas de adesão, entre outros (Newton & Dixit, 2012). A imunocompetência reduzida durante a transição pode ser indicada pelas alterações na expressão das citocinas, como o fator de necrose tumoral, o interferon- γ , e as interleucinas 10 e 17 no período entre o parto até aproximadamente 3 semanas após o mesmo (Heiser et al., 2015). Essas moléculas formam redes reguladoras complexas para promover aumento do fluxo sanguíneo para o tecido infectado, infiltração e ativação de células imunes e respostas sistêmicas, incluindo aumento da temperatura corporal, da frequência cardíaca e diminuição do apetite (Dantzer & Kelley, 2007), além de mudanças crônicas e progressivas na função do tecido afetado (Bradford et al., 2015).

A etiologia da imunossupressão durante o período de transição é multifatorial e não bem compreendida (Overton & Waldron, 2004), mas parece ser devido a alterações fisiológicas associadas ao parto e ao início da lactação, assim como aos fatores metabólicos relacionados a esses eventos (Heiser et al., 2015). A intensidade da mobilização lipídica durante o período de transição determina as concentrações de AGNE e BHBA na corrente sanguínea. Esses compostos são reconhecidos como os principais causadores da imunossupressão em vacas leiteiras nesse período (Roche et al., 2013; Sordillo & Raphael, 2013), uma vez que prejudicam a produção de imunoglobulinas pelos linfócitos e reduzem a capacidade fagocítica dos neutrófilos (Goff, 2008; Moyes et al., 2009; Ster et al., 2012).

Aproximadamente 75% de todas as doenças em vacas leiteiras são diagnosticadas no primeiro mês de lactação (LeBlanc et al., 2006), correspondendo ao momento de maior balanço energético negativo, quando as exigências energéticas da vaca associadas ao inadequado manejo nutricional estimulam a mobilização de ácidos graxos de cadeia longa a partir do tecido adiposo (Overton & Waldron, 2004; Ingvarsen, 2006; Roche et al., 2009; Gagnard et al., 2013).

Em rebanhos de alta produção, a prevalência de doenças clínicas e subclínicas é bem caracterizada, e alguns autores sugerem que as doenças afetam mais frequentemente vacas de alta produção e em confinamento (Washburn et al., 2002). Vacas em pastejo geralmente produzem menos leite e, portanto, são menos susceptíveis a problemas de saúde quando comparadas com vacas de alta produção mantidas confinadas. No entanto, a pesquisa desenvolvida por Ribeiro et al. (2013) demonstrou que a prevalência de doenças clínicas e subclínicas também pode ser um problema em vacas mantidas a pasto, chegando a 73% em seu estudo para vacas em pastejo e recebendo de 6 a 11 kg de MS de concentrado.

2.2. Planos nutricionais

Durante o período de transição, como já mencionado, as vacas leiteiras sofrem grandes adaptações metabólicas para suportar a lactação, e o objetivo do manejo nutricional durante esse período é de apoiar essas

adaptações (Overton & Waldron, 2004). Muitos dos distúrbios metabólicos que acometem as vacas durante a transição estão inter-relacionados em sua ocorrência e estão relacionados à dieta fornecida durante o pré parto (Curtis et al., 1985). O NRC (2001) recomenda que uma dieta contendo aproximadamente 1,25 Mcal de EL / kg de MS seja fornecida a partir da interrupção da lactação até aproximadamente 21 dias antes do parto e que uma dieta contendo 1,54 a 1,62 Mcal de EL / kg seja fornecida durante os 21 dias que precedem o parto.

Em 1995 Grummer e colaboradores observaram que o consumo de alimento durante as últimas semanas antes do parto reduz pronunciadamente (Grummer et al., 1995). Ainda em 1995, esse mesmo autor, em revisão, sugeriu que o consumo de matéria seca no pré e no pós parto são positivamente correlacionadas, e que o consumo de matéria seca no pré parto deve ser maximizado para melhorar o desempenho e a saúde após o parto. Assim, Grummer sugere que aumentar a densidade de nutrientes da dieta do pré parto pode melhorar o consumo de matéria seca no pós parto (Grummer, 1995). Por isso, a prática de alimentação comum nos sistemas de produção leiteiros é substituir a dieta de vacas secas em torno de três semanas antes do parto por uma dieta de mais alta densidade energética. No entanto, mesmo após décadas de pesquisa acerca do aumento da densidade de nutrientes, especialmente energia no pré parto, não foram observadas melhorias no balanço energético negativo e a incidência de doenças metabólicas permanece elevada, tanto em sistemas de manejo intensivo quanto em sistemas a base de pasto (Roche et al., 2013).

Segundo Drackley (2008) não há evidências de que o consumo de energia e de nutrientes em excesso durante o período seco seja benéfico de alguma forma para vacas leiteiras. Tais práticas de alimentação durante o pré parto ocasionam falhas na adaptação ao balanço energético uma vez que podem causar aumento na deposição de gordura nas vísceras e, após o parto, levar ao comprometimento do metabolismo do fígado (Dann et al., 2006), além de provocar inflamação, podendo influenciar as células imunológicas imaturas na circulação periférica (Graugnard et al., 2012), com aumento do risco de doenças metabólicas (Butler et al., 2011; Vickers et al., 2013; Zhou et al., 2015).

O fornecimento *ad libitum* de dietas de alta energia durante o período seco pode aumentar a capacidade de esterificação e diminuir a capacidade de oxidação no tecido hepático após o parto, o que favorece a deposição de triglicerídeos no fígado (Schoenberg et al., 2012). Em monogástricos, a distribuição dos AGNE entre oxidação e esterificação no fígado parece ser controlada pela membrana mitocondrial, a qual destina a proporção de AGNE que entram nas mitocôndrias para oxidação ou que são desviados para a formação de triglicerídeos via esterificação (Zammit, 1999). Em ruminantes, a entrada de AGNE nas mitocôndrias para oxidação em dióxido de carbono ou corpos cetônicos é controlada pela enzima carnitina palmitoiltransferase (CPT-1), cuja atividade é inibida por malonil-CoA, produzido durante o metabolismo do propionato (Knapp & Baldwin, 1990). A concentração de malonil-CoA muda de acordo com o estado energético (Knapp & Baldwin, 1990), portanto, pode servir como um mecanismo regulatório sensível ao equilíbrio de energia para a entrada de ácidos graxos na mitocôndria via CPT-1. A CPT-1 de vacas alimentadas com dietas *ad libitum* durante o período seco é mais sensível à inibição por malonil-

CoA do que o CPT-1 de vacas alimentadas em quantidades restritas durante o período seco (Dann & Drackley, 2005).

Assim, contrariando o dogma aceito, as pesquisas passaram a se concentrar em reduzir os estressores ambientais e fornecer dietas pré parto promotoras de consumo de energia adequado (Drackley, 2008; Drackley & Cardoso, 2014), alimentando para atender sem exceder as necessidades das vacas, controlando o consumo de energia por meio da diluição da densidade de energia da dieta da vaca seca, reduzindo o fornecimento de suplemento concentrado (Butler et al., 2011).

De acordo com Vailati-Ribon et al., (2017), para garantir uma transição favorável, as vacas devem ser sujeitas a uma restrição de alimentação de cerca de 10% de suas necessidades de energia metabolizável nos últimos 21 dias do período seco independentemente do manejo nutricional. Os resultados da pesquisa desenvolvida por esses autores suportam a hipótese de que a nutrição da vaca nas últimas semanas antes do parto modula tanto o sistema imune inato quanto o mecanismo homeorrético de adaptação à lactação.

Em pesquisa desenvolvida por Janovick et al. (2011) foi possível observar que as vacas superalimentadas no pré parto apresentaram hiperglicemia e hiperinsulinemia, seguidas por um período de maior produção de corpos cetônicos e com maior acúmulo de triglicerídeos no fígado em comparação com as vacas alimentadas com dieta controlada em energia. Além disso, os autores concluíram que a supernutrição pode agravar a resistência à insulina, que ocorre após o parto, contribuindo para uma maior mobilização de triglicerídeos do tecido adiposo e, subsequente, desenvolvimento de distúrbios metabólicos.

Vickers et al. (2013), com o objetivo de comparar o status metabólico de vacas em transição recebendo dietas com 77 e 87% de forragem como forma de diluir os nutrientes no pré parto, observaram que a concentração sanguínea de BHBA foi diminuída antes do parto para vacas alimentadas com a dieta com maior proporção de fibra no pré parto. Após o parto, a concentração de BHBA foi maior para os animais alimentados com a dieta de 77% de forragem, concordando com o trabalho de Dann et al. (2006), onde a redução do consumo de energia no período seco resultou em melhor equilíbrio energético. Além disso, Vickers et al. (2013) afirmam que vacas alimentadas em excesso de suas necessidades de nutrientes durante o período seco podem desenvolver insensibilidade à insulina.

Dietas com reduzida densidade de energia no pré parto tendem a aumentar o CMS e a concentração média de AGV após o parto (Huang et al., 2017). Além disso, limitar o consumo de energia no pré parto aumenta a concentração de AGNE e BHBA (Roche, 2007), estimulando uma ativação de proliferadores de peroxissoma e induzindo a atividade de enzimas envolvidas no transporte de metabólitos no plasma, tráfico intracelular e metabolismo de ácidos graxos de forma coordenada, o que gera um aumento da oxidação hepática e diminuição da esterificação de ácidos graxos no tecido hepático (Drackley, 1999). A consequência disso após o parto é a melhora no equilíbrio de energia (reduzindo as concentrações plasmáticas de AGNE e BHBA) e a retomada do consumo de matéria seca (Roche et al., 2005; Douglas et al., 2006; Drackley & Cardoso, 2014).

Os mecanismos fisiológicos responsáveis pelo aumento no consumo de matéria seca observado imediatamente após o parto para as vacas que recebem dietas com aporte de energia controlada durante o período seco podem estar relacionados com as mais baixas condições corporais ou pela perda crônica de condição corporal durante o período seco (Douglas et al., 2006). Para vacas da raça Holandês, o escore de condição corporal recomendado ao parto é de 3 pontos (Roche et al., 2009; Akbar et al., 2015) enquanto que para vacas Zebuínas e cruzadas é de 3,5 pontos (Lopes et al., 2015). Evitar condição corporal excessiva, além de ser um dos fatores mais importantes para promover o apetite e o alto consumo de matéria seca após o parto (Cardoso et al., 2013; Drackley & Cardoso, 2014), evita o acúmulo de triglicerídeos no fígado e, assim, garante as propriedades funcionais e fenotípicas dos neutrófilos (Zerbe et al., 2000; Drackley et al., 2005) e dos linfócitos (Lacetera et al., 2005), evitando o comprometimento do sistema imunológico e maiores índices de estresse oxidativo (Bernabucci et al., 2005). Os linfócitos de vacas super condicionadas secretam menos IgM após o parto e menos interferon- γ antes do parto do que as células de vacas em condição corporal moderada ou baixa.

Na comparação do uso de duas dietas durante o período seco, uma onde as vacas consumiram 157% de suas necessidades (NRC, 2001) e a outra onde as vacas consumiram 80% de suas exigências, Douglas et al. (2006) observaram que as vacas com consumo de 157% ganharam 0,2 pontos de ECC enquanto que as vacas na dieta restrita (80%) perderam 0,5 pontos de ECC durante o período seco, tiveram menor quantidade de triglicerídeos no fígado um dia após o parto, retomaram de forma mais rápida o CMS após o parto, mantendo o mesmo ECC durante as primeiras 5 semanas após o parto.

Ribeiro et al. (2013) observaram que as vacas que pariram com maior ECC tiveram uma maior perda de condição corporal até os 35 dias de lactação e que a prevalência de cetose subclínica foi mais alta para as vacas com ECC maior do que 3,25 pontos aos 7 dias após o parto.

2.3. Extratos de plantas na alimentação animal

A utilização de suplementos alimentares são uma prática diária de fazendas leiteiras modernas, especialmente após a proibição dos melhoradores de crescimento pela União Européia em 2006, quando a demanda por aditivos alimentares naturais ganhou enorme popularidade (Maciej et al., 2016). Durante muito tempo, o uso de extratos de planta permaneceu restrito ao consumo humano. Nos últimos anos, no entanto, o desenvolvimento de conceitos como a produção limpa e a demanda por produtos livres de substâncias potencialmente perigosas à saúde humana estimulou o uso desses extratos também na alimentação animal (Dedl & Elssenwenger, 2000).

Muitas plantas sintetizam compostos orgânicos como metabólitos secundários. Esses metabólitos estão envolvidos no crescimento, desenvolvimento e reprodução, além de terem importância na proteção das plantas contra predação e infecções microbianas (Cobellis et al., 2016). Dentre os principais compostos sintetizados podem-se citar os óleos essenciais, as saponinas, as substâncias picantes e amargas, os flavonoides e os polifenóis, que variam em sua disponibilidade de acordo com a espécie e parte da planta da qual são extraídos, além da forma de extração (Burt, 2004). De acordo com

Christaki et al. (2012), os compostos produzidos pelas plantas podem ser aplicados tanto na nutrição e promoção de saúde humana quanto animal, sendo igualmente importantes, uma vez que a melhoria da saúde animal pode traduzir-se na melhoria da segurança e da qualidade dos alimentos consumidos pelos humanos.

2.3.1. Extrato de orégano

O orégano (*Origanum vulgare*) é uma planta perene e aromática, nativa da região mediterrânea e muito utilizada na cozinha como tempero. Por ser uma planta aromática, contém compostos odorosos, voláteis, hidrofóbicos e altamente concentrados chamados de óleos essenciais (Christaki et al., 2012). Os óleos essenciais são metabólitos secundários produzidos pelas plantas, que têm como principal componente os terpenos, os quais apresentam diferentes estruturas e funções.

Os terpenos são classificados de acordo com o número de carbonos existentes em sua cadeia principal, sendo os monoterpenos (C10) as moléculas mais representativas, constituindo cerca de 90% dos principais óleos essenciais (Cobellis et al., 2016). O orégano é composto por aproximadamente 20 óleos essenciais diferentes (Tabela 1), sendo os monoterpenos carvacrol e timol aqueles encontrados em maior quantidade, 59,7 e 13,7% dos óleos essenciais, respectivamente (Lagouri et al., 1993; Utleet et al., 2002; Busquet et al., 2006). Ambos são estruturalmente muito semelhantes (Figura 1), variando apenas na posição do grupo hidroxil no anel fenólico (Lambert et al., 2001).

TABELA 1 - Composição qualitativa e quantitativa dos óleos essenciais presentes no orégano (*Origanum vulgare*).

Componentes	Quantidade (%)
Carvacrol	59,7
Timol	13,7
γ -Terpineno	11,0
p -Cimeno	7,6
Mirceno	1,3
0α -Terpineno	1,1
β -Cariofileno	0,8
Limoneno	0,7
α -Tujeno	0,7
γ -Gurjumeno	0,6
β -Bisaboleno	0,6
α -Pineno	0,5
cis-Tujenol	0,4
trans-Tujenol	0,2
4-Terpineol	0,2
Canfeno	0,1
β -Pineno	0,1
α -Feladreno	0,1
Borneol	0,1
Não identificado	0,3

Adaptado de Lagouri et al. (1993).

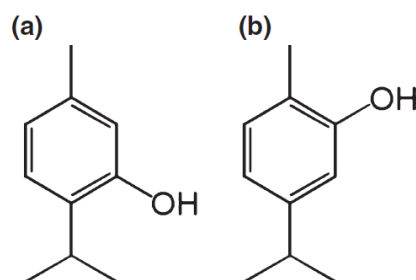


FIGURA 1 – Estrutura molecular do timol (a) e do carvacrol (b) (Fonte: Peixoto-Neves et al., 2009).

Numerosas publicações da medicina humana e algumas com animais de produção, principalmente monogástricos, mostram que o carvacrol, presente no orégano, possui consideráveis atividades antimicrobianas (Cowan, 1999; Lambert et al., 2001; Calsamiglia et al., 2007), antifúngicas (Basilico & Basilico, 1999), anti-inflamatórias e antioxidantes (Cervato et al., 2000; Gabbi et al., 2009a; Christaki et al., 2012; Peraskevakis, 2015).

Em não ruminantes, os óleos essenciais têm sido usados em larga escala devido ao seu potencial de substituir os antibióticos como melhoradores de desempenho (Lee et al., 2003; Hernández et al., 2004; Christaki et al., 2012). Já em ruminantes, devido à sua atividade antimicrobiana e por ser uma fonte natural, o orégano tem sido estudado como alternativa para melhorar a fermentação ruminal, eficiência de uso dos nutrientes e, sobretudo reduzir a produção de metano e amônia (Broudiscou et al., 2000; Calsamiglia et al., 2007; Patra, 2011; Tekippe et al., 2011; Patra & Yu, 2012; Oh & Hristov 2016; Cobellis et al., 2016, Kolling et al., 2018).

De acordo com Lin et al. (2013), a redução na produção de metano ocasionada pelo uso do orégano é devida a sua ação de defaunação no rúmen. O carvacrol e também o timol possuem em sua estrutura fenólica um grupo hidroxil, o que lhes confere maior efetividade como antibacteriano quando comparados a outros metabólitos secundários de plantas (Ultee et al., 2002). Além disso, são moléculas hidrofóbicas, o que permite que eles se acumulem na bicamada lipídica da membrana celular bacteriana e interajam com as proteínas e outros componentes citoplasmáticos, causando uma desestabilização nas estruturas celulares, as tornando mais fluidas e permeáveis (Benchar et al., 2008; Benchaar & Greathead, 2011; Solorzano-Santos & Miranda-Novales, 2012; Nostro & Papalia, 2012; Oh & Hristov, 2016). Esse tipo de interação leva à formação de canais de membrana para íons, ausência de uma força de proton motora, dissipação do gradiente de pH, exposição dos ácidos nucleicos intracelulares e redução na síntese de ATP com consequente morte celular (Lambert et al., 2001; Ultee et al., 2002; Franz et al., 2010).

Os monoterpênicos do orégano têm uma baixa especificidade antimicrobiana, podendo inibir tanto bactérias gram-positivas (produtoras de metano) quanto gram-negativas (produtoras de propionato) (Busquet et al., 2006; Calsamiglia et al., 2007), de uma forma dependente da dose (Oh & Hristov,

2016). As bactérias gram-negativas possuem uma barreira de impermeabilidade mais forte (Nikaido, 1994). No entanto, ao contrário de muitos antibióticos, a característica hidrofóbica e o tamanho da molécula permitem que o carvacrol e o timol sejam capazes de ganhar acesso ao periplasma das bactérias gram-negativas por meio dos poros das proteínas da membrana externa (Helander et al., 1998).

Para serem considerados efetivos na modificação da fermentação ruminal, os aditivos alimentares devem aumentar a produção de propionato e reduzir a produção de metano sem diminuir a produção total de ácidos graxos voláteis, melhorando assim a eficiência alimentar (Calsamiglia et al., 2007; Khiaosa-Ard & Zebeli, 2013). No rúmen, a formação de metano é o principal meio de eliminação de hidrogênio que, também, pode ser efetuado durante a síntese de ácidos graxos voláteis ou incorporado em matéria orgânica microbiana (Moss et al., 2000). O ácido graxo volátil propionato compete com o metano por hidrogênio, sendo, portanto beneficiado em ocasiões de redução na metanogênese (Hook et al., 2010).

Khiaosa-Ard & Zebeli, (2013), em uma meta-análise de 28 publicações avaliando o efeito de blends de óleos essenciais e seus componentes bioativos, observaram que doses de 0,01 a 0,43 g/kg de MS da dieta não causam modificações ao pH do rúmen, concentração de amônia e produção de ácidos graxos voláteis em vacas lactantes. Os autores destacaram que a dose é um dos fatores determinantes para o efeito dos óleos essenciais na fermentação ruminal, não estando claro se doses mais elevadas são mais eficazes. Em revisão, Cobellis et al. (2016) citam que doses capazes de alterar a produção de amônia são menores que as necessárias para afetar a produção de metano, mas apontam que existem muitas questões a serem respondidas, sendo necessário que novas pesquisas sejam realizadas para determinar doses efetivas e modos de ação dos óleos essenciais como aditivos para ruminantes.

Os resultados da pesquisa realizada *in vitro* por Benchaar & Greathead, (2011) mostraram que os óleos essenciais podem ser eficazes na redução da produção de metano. No entanto, parece que são necessárias altas concentrações desses compostos para inibir a metanogênese no rúmen, fazendo com que os efeitos benéficos dessa inibição sejam muitas vezes contrabalançados por uma redução na produção total de ácidos graxos voláteis e digestão, o que não é desejável pelas consequências negativas sobre a produtividade animal. Evans & Martins (2000) observaram reduções nas concentrações de propionato e acetato em incubações *in vitro* utilizando 45, 90 ou 180 µg/ml do monoterpene timol. Resultados semelhantes também foram observados por Cardozo et al. (2004) utilizando doses de 7,5 mg/kg de MS de extrato de orégano em cultura contínua, assim como Busquet et al. (2006) em experimento também *in vitro* com a dose de 300 mg de carvacrol/L de fluído de cultura.

Busquet et al. (2006) testaram doses mais baixas (3 e 30 mg de carvacrol/L de fluído de cultura) sem qualquer alteração na fermentação ruminal, e uma dose mais alta (3000 mg de carvacrol/L de fluído de cultura) causou um incremento na proporção de propionato e redução na proporção de butirato sem afetar o acetato. Esses resultados sugerem que as mudanças na fermentação microbiana ruminal podem ser contraditórias dependendo da dose utilizada. Os

autores observaram também que, nas doses mais altas, houve uma elevação no pH e redução concentração de ácidos graxos voláteis totais e amônia.

A grande variabilidade das dosagens utilizadas dificulta a comparação dos resultados, sendo a maioria deles inconclusiva. Além disso, a qualidade e quantidade dos compostos ativos são extremamente variáveis e difíceis de padronizar, com fatores como o estágio vegetativo, a parte da planta utilizada para preparar o extrato, a estimulação da planta para sintetizar compostos defensivos, as condições ambientais e a variedade de cultivares influenciando na produção de metabólitos secundários (Jouany & Morgavi, 2007).

Efeitos inconsistentes no consumo da dieta foram relatados, dependendo do tipo de óleo essencial e doses utilizadas. Os compostos voláteis presentes nos extratos de orégano, por exemplo, podem exercer efeitos negativos sobre a ingestão, especialmente quando doses altas são utilizadas. Esse efeito ocorre devido a sua característica aromática, que pode afetar negativamente algumas características organolépticas do alimento, como gosto, cheiro e palatabilidade (Lambert et al., 2001; Hristov et al., 2013; Cobellis et al., 2016). Kolling et al. (2016) testaram doses de extrato de orégano de 0, 2,5, 5,0 e 7,5 g/animal dia para novilhas leiteiras e observaram um menor consumo de concentrado quando a dose de 7,5 g foi fornecida aos animais, porém esse efeito não foi observado sobre o consumo de matéria seca total. Peraskevakis (2015) e Lejonklev et al. (2016) não observaram modificações no consumo de matéria seca com a inclusão de 30 g da planta seca de orégano na dieta de cabras e 0,2 e 1 g de óleo de orégano por kg de matéria seca consumida por vacas lactantes, respectivamente.

Em monogástricos, o carvacrol é quase completamente absorvido no intestino delgado proximal e no estômago (Michiels et al., 2008), alcançando a corrente sanguínea e podendo desempenhar também funções de imunoestimulação (Oh et al., 2013 e Oh & Hristov, 2016) e ação antioxidante (Peraskevakis, 2015). Em ruminantes, a via até absorção dos óleos essenciais é ainda contraditória. De acordo com Malecky et al. (2009a), o anel fenólico no monoterpene diminui a sua digestibilidade aparente do rúmen. Segundo Franz et al. (2010), 60% dos fenóis podem ser resistentes à degradação microbiana no rúmen podendo atingir o intestino delgado na forma biologicamente ativa. Por outro lado, há relatos de que a recuperação duodenal dos monoterpenos é muito baixa, mesmo com doses altas (Broudiscou et al., 2007; Malecky et al., 2009b), sendo a bioconversão pela microflora do rúmen (Schlichtherle-Cerny et al., 2004), a transferência para a fase gasosa devido à volatilidade dos terpenos e a absorção através da parede ruminal para o sistema sanguíneo (Malecky et al., 2009b) os principais mecanismos propostos para explicar o desaparecimento dos monoterpenos no trato digestivo dos ruminantes.

Lejonklev et al. (2016) observaram que o carvacrol estava presente nas amostras de leite de vacas que receberam 0,2 e 1 g/kg de MS de óleo de orégano na dieta, sugerindo que existe alguma forma de proteção contra alterações metabólicas. Alguns outros trabalhos também fornecem evidências de que parte dos óleos essenciais escapa da ação dos microrganismos do rúmen. Gabbi et al. (2009a) observaram efeito imuno estimulante fornecendo 0,1g/dia de uma mistura de óleos essenciais para novilhas leiteiras, com diferenças na contagem de hemácias, monócitos, linfócitos e leucócitos.

Peraskevakis (2015), por sua vez, forneceu 30 g de planta seca de orégano para cabras e observou melhora nas defesas antioxidantes. Cervato et al. (2000) citam que o extrato de folha de orégano tem múltiplos locais de ação e pode ser usado em várias reações específicas para monitorar os diferentes mecanismos antioxidantes, sendo eficaz na prevenção de todas as fases do processo peroxidativo.

Os compostos secundários de plantas, especialmente óleos essenciais, também podem influenciar a atividade neuronal através da modulação de neurotransmissores como a dopamina e a serotonina, que potencialmente modificam a resposta do animal ao meio ambiente (Trabace et al., 2011; Zotti et al., 2013). O carvacrol, presente em grande quantidade no orégano, se regularmente ingerido em pequenas doses é capaz de determinar sentimentos de bem estar (Zotti et al., 2013). Devido à sua lipofilicidade e capacidade de atravessar facilmente as membranas, como a barreira hematoencefálica (Savelev et al., 2004), esta molécula volátil pode se acumular no cérebro, interagindo com diferentes receptores no sistema nervoso central. De acordo com Zotti et al. (2013), após administração de carvacrol por sete dias consecutivos, houve um aumento na concentração de dopamina e serotonina em camundongos, sendo que a desregulação destes neurotransmissores está fortemente ligada a alterações do humor, apetite, sono e processos cognitivos e emocionais. Na pesquisa desenvolvida por Trabace et al. (2011), os ratos que receberam carvacrol mostraram um aumento na imobilidade e uma redução no comportamento de natação. De acordo com os autores, o mecanismo através do qual o carvacrol induziu esse efeito é uma alteração nos níveis de 5-HT, que são os receptores para o neurotransmissor serotonina.

Uma vez que os óleos essenciais podem alterar as características funcionais do rúmen e também características neuronais, os potenciais efeitos sobre o comportamento dos animais devem ser considerados. Kolling et al. (2016) trabalharam com doses de extrato de orégano que variaram de 0 a 7,5 g/dia para novilhas leiteiras e observaram aumento na taxa cardíaca com inclusão de 5g do extrato na dieta, além do maior tempo para consumo do concentrado quando a dose de 7,5 g foi fornecida aos animais, justificado pelas alterações de sabor, uma vez que o extrato foi adicionado diretamente ao concentrado. Como os ruminantes são sensíveis ao sabor e ao cheiro dos alimentos (Ginane et al., 2011), é possível hipotetizar que o uso de extratos com óleos essenciais provoca alterações comportamentais. Gabbi et al. (2009b) forneceram 1g de uma mistura de óleos essenciais na dieta de novilhas e observaram que os animais suplementados foram mais sociáveis e tiveram uma menor frequência cardíaca que os animais do tratamento controle.

2.3.2. Extrato de chá verde

O chá verde foi introduzido na China e no Japão no início do século VIII, sendo usado como remédio (Ishihara et al., 2001). É derivado de *Camellia sinensis* L., é uma das bebidas mais consumidas no mundo (Senanayake, 2013) e provém de regiões tropicais e temperadas da Ásia, como a China, Índia, Sri Lanka e Japão. Também é cultivado em vários países africanos e sul-americanos. As diferentes idades das folhas produzem qualidades variadas do chá, pois suas composições químicas são distintas, sendo as folhas imaturas

preferencialmente colhidas e processadas para a produção de chá e extrato (Senanayake, 2013), as quais são comercialmente disponíveis em forma de folha seca ou pó.

Os polifenóis são metabólitos secundários de plantas, geralmente envolvidos na defesa contra a radiação ultravioleta ou agressão por patógenos (Manach et al., 2004) e podem ser classificados em grupos diferentes em função do número de anéis fenólicos que contêm os elementos estruturais que os ligam entre si. Um desses grupos é o dos flavonóides, que partilham uma estrutura comum composta por dois anéis aromáticos ligados entre si por três átomos de carbono, formando um heterociclo oxigenado, e podem ser divididos em flavonóis, flavonas, isoflavonas, flavanonas, antocianidinas, e flavanóis (catequinas e proantocianidinas – Figura 2), em função do tipo de heterociclo envolvido. Cerca de 88% dos polifenóis presentes no chá verde são catequinas e seus derivados (Cyboran et al., 2015). A atividade antioxidante dos polifenóis do chá verde é primariamente atribuída à combinação de anéis aromáticos e grupos hidroxil que são os responsáveis por neutralizar os radicais livres (Senanayake, 2013). Dessa forma, a epicatequina galato e a epilocatequina galato são as catequinas mais importantes para promoção de saúde (Khan & Mukhtar, 2007; Senanayake, 2013), devido ao número de anéis aromáticos além do número e posição dos grupos hidroxil na molécula (Farkas et al., 2004).

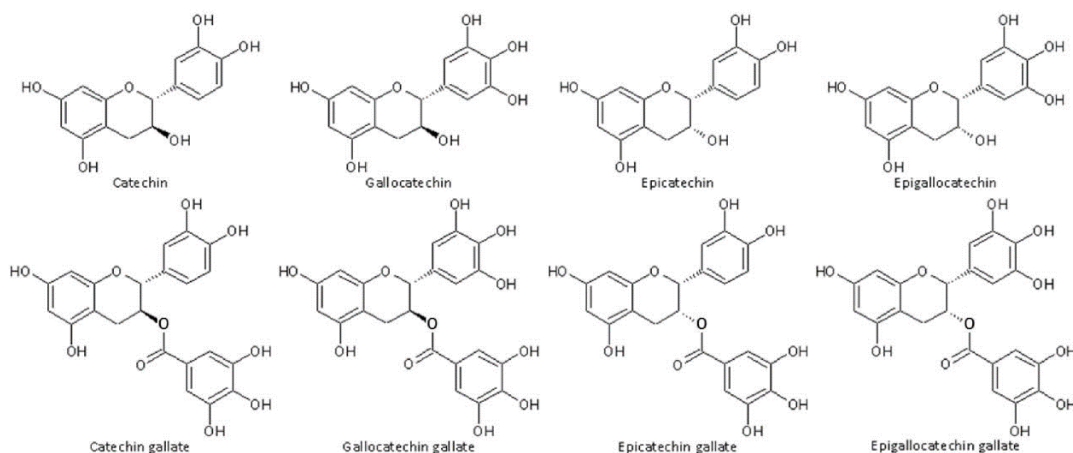


FIGURA 2 – estrutura química das principais catequinas do chá verde. (Fonte: Wein et al., 2016).

As propriedades promotoras de saúde das catequinas são relacionadas à sua atividade antioxidante e anti-inflamatória (Ishihara et al., 2001; Nishida et al., 2006; Gonçalves et al., 2015; Cyboran et al., 2015; Wein et al., 2016), sendo os efeitos sobre a saúde dependentes da quantidade consumida e da biodisponibilidade (Manach et al., 2004; Khan & Mukhtar, 2007). Múltiplas utilidades benéficas do chá verde têm sido apresentadas para uso na indústria leiteira, de suínos, cabras e aves (Saeed et al., 2017). Vacas leiteiras, especialmente durante o período de transição, quando estão mais expostas aos estressores oxidativos e podem sofrer distúrbios metabólicos, poderiam se beneficiar do consumo do extrato de chá verde (Wein et al., 2016).

A estabilidade das catequinas do chá verde depende do pH e da temperatura. Em soluções ácidas (pH 1,8 a 6,4), como as encontradas no estomago, as catequinas exibem estabilidade excepcional enquanto que são extensivamente degradadas em pH alcalino semelhante ao encontrado no intestino delgado (Zhu et al., 1997; Lamothe et al., 2014). Entretanto, a epigalocatequina galatto é estável até um pH de 7,4 (Yoshino et al., 1999).

Poucas informações estão disponíveis sobre a cinética e processos de absorção das catequinas (Starp et al., 2006). Evidências experimentais indicam que, em animais monogástricos, as catequinas são parcialmente degradadas e absorvidas no intestino delgado por meio de difusão passiva simples e difusão facilitada, com auxílio de proteínas transportadoras na membrana (Yoshino et al., 1999; Starp et al., 2006). De acordo com Lambert & Yang (2003) e Khan & Mukhtar (2007), as principais vias metabólicas para as catequinas do chá verde são glucuronidação, sulfatação e metilação. Isso gera diferentes metabólitos intermediários, os quais são degradados aos ácidos fenilacético e fenilpropionóico no intestino, passam à circulação e atingem os tecidos. Em seres humanos e outros animais monogástricos, as catequinas foram detectadas no plasma após administração oral de chá verde (Nakagawa et al., 1997; Manach et al., 1999; Lambert & Yang, 2003; Manach et al., 2004; Abrahamse et al., 2005; Cyboran et al., 2015).

Em ruminantes, existem apenas dois estudos onde a biodisponibilidade das catequinas do chá verde foi avaliada (Gladine et al., 2007; Wein et al., 2016). Wein et al. (2016) avaliaram a absorção sistêmica das catequinas do chá verde após aplicação intraruminal e intraduodenal em vacas, bem como a degradação ruminal das catequinas e produção de gás *in vitro*. Após aplicação intraruminal, os autores observaram níveis de catequinas no plasma abaixo do limite de detecção, mas detectaram picos de prováveis metabólitos das catequinas. Quando o chá verde foi aplicado no duodeno, as catequinas foram detectadas no plasma entre 1,5 a 2,5 horas após a administração, sugerindo que esses compostos são degradados pela microflora ruminal. Para comprovar essa hipótese, os autores testaram a degradação ruminal *in vitro* com 24 horas de incubação utilizando fluido ruminal ativo e inativo e observaram que a concentração de catequinas se reduziu continuamente apenas quando fluido ruminal ativo foi utilizado. Como a microflora ruminal impacta de forma negativa a biodisponibilidade das catequinas, os autores sugerem que os metabólitos gerados sejam investigados quanto ao seu potencial benéfico à saúde tanto de forma sistêmica, quanto nos tecidos do trato gastro intestinal, e sugerem a possibilidade de uso do extrato na forma protegida.

Gladine et al. (2007) avaliaram a biodisponibilidade e capacidade antioxidante de extratos de plantas ricos em polifenóis administrados de forma intraruminal em uma única dose equivalente a 10% da MS da dieta com ovinos. Os autores observaram aumento no status antioxidante do plasma e concluem que o processo digestivo em ruminantes não inibe as propriedades benéficas à saúde dos extratos de plantas ricos em polifenóis. Em outros estudos, houve redução no quadro de diarreia em bezerras que receberam extrato de chá verde (Maciej et al., 2016), melhoria na atividade antioxidante no plasma de novilhas que receberam silagem de chá verde (Nishida et al., 2006) e redução *in vitro* do

dano ao tecido mamário causado pela mastite em vacas leiteiras (Lauzon et al., 2005).

Adicionalmente, Winkler et al. (2015) forneceram 0,175 g/ kg de MS de uma mistura contendo 95% de chá verde e 5% de extrato de cúrcuma para vacas leiteiras durante o período de transição e observaram que a adição desses compostos à dieta não modifica o CMS e o balanço de energia, mas tem efeitos positivos sobre o processo inflamatório e a ocorrência de estresse metabólico no fígado das vacas.

Assim como foi observado para o extrato de orégano, o consumo de chá verde pode aumentar as concentrações de serotonina e dopamina, que são hormônios ansiolíticos e desencadeiam melhorias no bem estar (Mirza et al., 2013). Esses mesmos autores observaram alterações comportamentais, como aumento da locomoção e exploração do ambiente em roedores que receberam extrato de chá verde, o que estaria diretamente ligado à habilidade dos flavonóides em modular a atividade dos receptores GABA-A os quais são relacionados ao comportamento agressivo e impulsivo.

Os resultados obtidos até recentemente com uso de polifenóis em ruminantes são limitados e difíceis de serem comparados, uma vez que diferentes doses foram utilizadas, e que o extrato da mesma planta pode ser distinto dependendo por exemplo da época de colheita e do tipo de solo. Com este cenário, fica claro a necessidade de mais estudos visando esclarecer a capacidade desses compostos em modificar o comportamento, o ambiente ruminal e melhorar o estado de saúde, especialmente em vacas leiteiras durante o período de transição.

2.4. Influências genéticas

O Brasil apresenta cerca de 93% de seu território na faixa tropical, com alta incidência de radiação solar e temperatura, e, apesar de possuir um dos maiores rebanhos bovinos do mundo, possui índices zootécnicos mais baixos quando comparado a países produtores tradicionais de leite. Nesse cenário, os principais fatores limitantes para a produção de leite são a característica extensiva de produção, a dificuldade adaptativa das raças de origem européias e o mais baixo mérito genético para produção de leite das raças zebuínas em relação às taurinas (Vasconcelos et al., 2003).

Dessa forma, afim de aumentar o potencial de produção de leite, considerando as características ambientais e garantir o bem estar dos animais, ao longo de anos, os produtores nacionais procuram associar as características desejáveis das raças taurinas e zebuínas (Azevedo et al., 2005), para que os descendentes deste cruzamento apresentem maior vigor geral que a média dos pais. Esses cruzamentos se mostram viáveis do ponto de vista econômico e geram animais mestiços, principalmente formados a partir das raças Holandês e Gir (Azevedo et al., 2005; Madalena et al., 2012).

Das raças taurinas, a Holandês é a mais utilizada devido ao seu alto mérito genético para produção de leite. De acordo com Silva et al. (2011), a produção de leite de vacas da raça Holandês de primeira, segunda e terceira lactação manejadas em sistemas intensivos pode variar de 8.053 a 9.218 kg por lactação. A média brasileira de produção de leite da raça na idade adulta é de 8.047 kg em 305 dias de lactação (ABCBRH, 2018), porém, por não se

adaptarem ao ambiente da maioria das regiões brasileiras, não expressam todo o seu potencial genético para a produção leiteira (McManus et al., 2008).

Das raças zebuínas, a Gir é a mais utilizada por possuir linhagens leiteiras melhoradas e ser bastante adaptada ao clima tropical (Reis Filho et al., 2010). A raça Gir vem, há anos, passando por processo de seleção para produção de leite, sendo que a linhagem já conquistou o status de raça leiteira. Possuem pelos finos e curtos, pele escura, coberta por melanina e maior área de superfície para troca de calor nas orelhas e barbela e, por isso, conseguem se adaptar melhor ao clima tropical podendo suportar temperaturas de até 30°C sem prejuízos ao metabolismo e produção (Pereira, 2005). Além disso, respondem muito bem a melhorias de manejo e nutrição, possuem exigências nutricionais para manutenção mais baixas devido ao menor tamanho e peso de órgão internos (Berman, 2011), e dispõem de uma vida útil significativamente superior à das vacas taurinas, sendo comum animais com dez crias em atividade produtiva. O Gir Leiteiro é reconhecidamente o zebuino de maior produtividade leiteira em clima tropical. O Leite produzido pelas vacas Gir é de boa qualidade nutricional e com alta porcentagem de gordura e proteína, sendo assim um produto bastante apreciado pela indústria de laticínios. Outra vantagem é a produção do Leite A2, que diminui a incidência de alergias a determinada proteína do leite, comum em outras raças leiteiras (ABCGIL, 2018).

O cruzamento entre as raças Holandês e Gir combina produção mais elevada de leite oriunda das vacas taurinas e a adaptação e rusticidade das zebuínas, demonstrando o efeito da complementariedade (Pereira, 2005; Madalena et al., 2012). A maior parte do leite produzido no Brasil é oriundo de rebanhos de bovinos mestiços (Facó et al., 2002; Madalena et al., 2012), por isso, estudos considerando esses diferentes tipos raciais são muito importantes e auxiliam na compreensão do manejo e metabolismo desses animais afim de elevar sua produtividade, adaptar tecnologias e tornar a atividade mais eficiente e competitiva.

No Brasil, os primeiros cruzamentos entre as raças Holandês e Gir surgiram nas décadas de 1940 e 1950 em São Paulo, sendo difundido depois disso para outras regiões e bacias leiteiras. Com o passar dos anos, pesquisadores passaram a desenvolver técnicas e selecionar os melhores animais visando melhorar o desempenho zootécnico do cruzamento, com as normas para a formação da raça Girolando surgindo em 1989 e o teste de preogênie em 1996 (ABCG, 2018).

Os índices zootécnicos da raça, no ano de 2014, apontam um intervalo entre partos médio de 434 dias, uma duração de lactação de 283 dias e uma produção de leite por lactação de 5.061 kg, com o leite produzido apresentando em média 4% de gordura, 3,3% de proteína e 4,1% de lactose. Enquanto que, no ano de 2017, a produção média de leite vacas mestiças (Holandês x Gir) de acordo com o controle leiteiro da Associação Brasileira de Criadores de Girolando foi de 6.638 kg (ABCG, 2018).

Para animais Girolando manejados a pasto, Ruas et al. (2010) observaram uma produção de leite em torno de 1.922 kg de leite por lactação para vacas primíparas e, de 2.720 a 3047 kg para vacas de segunda e terceira cria, em 270 dias de lactação. O pico de produção ocorre por volta dos 56 dias de lactação e o leite produzido apresenta em média 3,6% de gordura e 3,2% de

proteína (Ruas et al., 2010). Ao analisarem o desempenho em 3.574 lactações de vacas mestiças Holandês x Gir manejadas em diferentes sistemas produtivos, Facó et al. (2002) observaram uma duração média de lactação de 188, 229 e 313 dias e uma produção 2.210, 2.902 e 4.506 kg de leite por lactação para os sistemas extensivo, semi-intensivo e intensivo, respectivamente.

Dentre as diversas características de funcionalidade dos animais Girolando pode-se destacar a produtividade, a rusticidade, a precocidade, a longevidade e a fertilidade, além da alta capacidade de adaptação a diferentes tipos de manejo e clima. As fêmeas Girolando, possuem boas características fisiológicas e morfológicas para a produção nos trópicos, como a capacidade e suporte de úbere, tamanho de tetas, pigmentação, capacidade termorreguladora, aprumos e pés fortes e conversão alimentar (ABCG, 2018)

Fatores como raça e base genética dos animais e a alimentação influenciam a ocorrência de doenças relacionadas ao período de transição (Doll et al., 2009). Em rebanhos americanos, que utilizam em sua grande maioria animais da raça Holandês, aproximadamente 50% das vacas apresentam um ou mais distúrbios de saúde durante esse período (LeBlanc et al., 2006), uma consequência da forte seleção genética sobre esses rebanhos, focada durante muitos anos apenas na produção de leite (Drackley, 1999).

No Brasil, embora o maior número de vacas criadas seja mestiço, os manejos nutricionais e reprodutivos se baseiam em dados de pesquisas realizadas com rebanhos de animais taurinos, principalmente da raça Holandês, os quais produzem mais leite e apresentam maior persistência e duração da lactação (Freitas et al. 2001). Com isso, as práticas de manejo adotadas muitas vezes não são adequadas e não retratam a realidade homeorrética das vacas mestiças, limitando os conhecimentos sobre as alterações metabólicas e a incidência e caracterização de doenças no período de transição (Borges et al., 2015).

Bitew & Prased (2011) estudaram a ocorrência de problemas reprodutivos em vacas zebuínas e taurinas cruzadas e em vacas zebuínas puras e observaram que a prevalência de problemas reprodutivos foi maior nas vacas cruzadas (42,4%) com relação às zebuínas (24,5%), as quais são mais adaptadas a condições tropicais de alta temperatura e umidade, doenças e qualidade de alimentação do que as raças taurinas.

Em relação ao metabolismo, as vacas de raças taurinas apresentaram maior deposição de gordura visceral quando comparadas às zebuínas, as quais apresentam maior deposição subcutânea (Carvalho et al., 2009). A gordura visceral é metabolizada de forma mais rápida e em maiores quantidades que a subcutânea, e é uma das razões por que os animais taurinos têm maiores perdas de peso e ECC após o parto quando comparados aos zebuínos (Thompson et al., 1983).

Além disso, também existem diferenças com relação à partição de nutrientes no início da lactação. O alto mérito genético das raças taurinas para produção de leite parece ser a resposta para as principais diferenças metabólicas entre as raças no período de transição. A partição de nutrientes das raças taurinas durante a transição prioriza a produção de leite (Gaugnard et al., 2012). As mudanças hormonais e metabólicas envolvidas incluem menor concentração de glicose e insulina e certa resistência à insulina nos tecidos

dependentes como adiposo e muscular (Dann et al., 2006; Sordillo & Raphael, 2013). Também ocorrem o aumento do GH e redução do IGF-1, causando desacoplamento do eixo somatotrópico (Lucy et al., 2009), garantindo o fornecimento de glicose para a glândula mamária, além da redução da progesterona, aumento da prolactina e estrógeno (Grummer, 1995) e aumento de glicocorticóides e catecolaminas (Weber et al., 2001). Todas essas alterações têm efeitos depressores no CMS, estimulando lipólise do tecido adiposo, prejudicando o sistema imunológico, aumentando a severidade do balanço energético negativo, e predispondo os animais a doenças e distúrbios metabólicos (Nonnecke et al., 2003; Garro et al., 2014).

Nos animais zebuínos, por outro lado, além da produção de leite ser mais baixa, ela não é uma das prioridades durante a partição de nutrientes após o parto (Borges et al., 2015). Concentrações mais altas de insulina, glicose e IGF-1 após o parto são observadas para animais zebuínos, o que significa que, nesses animais, é provável que o desacoplamento do eixo somatotrópico para garantir o suprimento de glicose para glândula mamária não ocorra com a mesmamagnitude. Conseqüentemente, as vacas zebuínas apresentam leve balanço energético negativo ou muitas vezes ele nem ocorre, não sendo raro se observar ganho de peso nos animais zebuínos logo após o parto (Borges et al., 2015). Em decorrência do menor desafio nutricional, provavelmente se tem pouco prejuízo ao sistema imune e CMS e, conseqüentemente menor ocorrência de doenças.

Os animais F1 Holandês x Gir apresentam exigência de manutenção intermediária em relação às raças puras parentais e tendem a manter padrões metabólicos semelhantes à raça Holandês com relação à partição de nutrientes após o parto (Borges et al., 2015). Por outro lado, a pesquisa desenvolvida por Laguna et al. (2017) comparando vacas Holandesas e F1 Holandês x Gir apontou diferenças entre essas composições raciais quanto a concentração de glicose e expressão do gene MUT, envolvido no metabolismo do propionato. De acordo com autores, as vacas F1 apresentaram maior concentração de glicose e mais alta expressão do gene MUT após o parto quando comparadas com as da raça Holandês, o que sugere um balanço energético mais favorável, com uma melhor adaptação metabólica do fígado das vacas F1 em resposta do aumento na demanda de glicose.

As pesquisas nessa área indicam diferenças no metabolismo entre as diferentes composições raciais. Elas são de extrema importância visando estabelecer exigências nutricionais para diferentes fases do processo de produção leiteira a fim de se aumentar a eficiência do setor, que ainda se baseia nos sistemas internacionais, formulados a partir de animais taurinos para estimar as exigências nutricionais dos animais.

2.5. Comportamento alimentar e social

A capacidade de armazenar nutrientes nos tecidos corporais durante a gestação e usar essas reservas para a produção de leite no início da lactação influencia o comportamento e a fisiologia dos mamíferos. As vacas leiteiras modernas sustentam a produção de leite durante o início da lactação com o aumento do consumo de alimentos e mobilização de reservas corporais.

Todavia, no início da lactação, a capacidade de consumo de alimentos é defasada em relação ao aumento da produção de leite, e a extensão da mobilização da gordura corporal é determinada pelo grau de acúmulo de gordura ocorrida no período de final da lactação anterior (Kuhla et al., 2016).

A quantidade de alimento consumida por um ruminante, em um determinado período de tempo, depende do número de refeições e da duração e taxa de alimentação em cada refeição nesse período, sendo cada um desses processos o resultado da interação dos padrões de absorção, mobilização e metabolismo do animal com as propriedades físicas e químicas da dieta estimulando receptores da saciedade (Allen et al., 2009; Allen et al., 2015). Conforme Allen et al. (2015), pesquisas sugerem que as refeições são terminadas por sinais oriundos do fígado para o cérebro através do nervo vago aferente controlando os centros de controle da fome e da saciedade e que esses sinais são afetados pela oxidação hepática de fontes de energia e geração de ATP. Das fontes de energia metabolizadas no fígado dos ruminantes, o ácido graxo volátil propionato é ligado primariamente aos sinais de saciedade, pois seu fluxo no fígado aumenta grandemente durante as refeições. Para vacas no início de lactação, a falta de precursores de glicose e o aumento da oxidação de AGNE no fígado levam à falta de intermediários do ciclo TCA, resultando em um acúmulo de acetil-CoA intracelular e exportação de corpos cetônicos, modificando a cascata de sinais aos centros de controle de alimentação e, conseqüentemente, o comportamento alimentar (Allen et al., 2009).

O apetite ou impulso de alimentação ocorre em função das exigências energéticas, as quais são determinadas pelo potencial genético, produção e pela condição fisiológica dos animais (Mertens, 1997). O tamanho corporal, a condição corporal, a capacidade de distensão ruminal, a raça e o status fisiológico são características que influenciam no consumo de alimento, uma vez que alteram as exigências nutricionais dos animais (Pereira et al., 2003). Para as vacas alimentadas com dietas bem equilibradas durante o período pré parto, o conforto ambiental e das instalações, o manejo e principalmente o estresse, além de outros motivos, são determinantes de mudanças no comportamento ingestivo e social, por isso, esforços para eliminar possíveis estressores devem ser enfatizados nas fazendas leiteiras (Drackley et al., 2005).

A avaliação das alterações comportamentais e de parâmetros de bem estar pode gerar valiosas informações com relação ao estado de saúde dos animais, o que em vacas leiteiras durante a transição é especialmente importante, uma vez que esse é o período mais crítico para o desenvolvimento de doenças e distúrbios metabólicos (Huzzey et al., 2007; Roche et al., 2013; Drackley & Cardoso, 2014). Historicamente o bem estar animal foi negligenciado pela busca de melhores índices zootécnicos. No entanto, atualmente é um assunto muito discutido em escala mundial. No Brasil estudos relacionados ao bem estar são relativamente recentes, e a demanda por novas formas de criação que busquem respeitar o comportamento natural dos animais se contrapõem ao modelo convencional de criação.

Das muitas definições propostas para o conceito de bem estar animal, a de maior repercussão no meio científico foi aquela publicada por Broom (1986), segundo a qual o bem estar de um indivíduo é o seu estado em relação às suas tentativas de adaptação ao ambiente. De acordo com Honorato et al. (2012), as

diferentes concepções de bem estar animal convergem a três elementos principais: as experiências subjetivas dos animais, sua adaptação fisiológica e comportamental e o seu funcionamento biológico. Por isso, o diagnóstico de bem estar animal compreende a observação do comportamento animal e de indicadores fisiológicos e sanitários (Bond et al., 2012). Os indicadores fisiológicos geralmente são associados ao estresse e compreendem principalmente as medidas relacionadas com a ativação do sistema nervoso autônomo como a temperatura corporal e frequências cardíaca e respiratória. Os indicadores sanitários incluem basicamente a análise hematológica e o estado geral de saúde dos animais. Os indicadores comportamentais abrangem principalmente alterações de postura, locomoção e temperamento baseados nos comportamentos normais de alimentação, ruminação e outras atividades desenvolvidas pelos animais e pela eficiência da alimentação e da ruminação (Dado & Allen, 1995).

A diversidade de objetivos e condições experimentais conduziram à várias formas e técnicas de registros de dados relacionados ao comportamento ingestivo, que vão desde a observação visual dos animais até o uso de equipamentos de registro automático dos padrões comportamentais (Mendonça et al., 2004). Equipamentos que registram automaticamente o comportamento animal estão disponíveis no mercado há várias décadas, e seu uso pode ser uma alternativa eficiente para registrar alterações comportamentais, uma vez que são capazes de armazenar informações detalhadas ininterruptas desses parâmetros, reduzindo a mão de obra e evitando possível viés entre avaliadores no caso de observações visuais.

Além de ser modificado por condições de alimentação, os atributos comportamentais normais também podem ser alterados por condições severas de estresse, traumas, lesões, distúrbios digestivos e inflamações. Por isso, o comportamento pode ser utilizado como um indicador do estado físico e fisiológico dos animais (Komatsu et al., 2014), contribuindo para elaboração de novas técnicas de manejo que proporcionem maior conforto e melhoria na produtividade.

O bem estar das vacas leiteiras no início da lactação é uma preocupação por causa da maneira como esses animais são manejados e alojados e por causa de seu alto risco de desenvolver doenças após o parto (Jensen & Proudfoot, 2017). De acordo com esses autores, durante a transição da gestação para lactação, as vacas leiteiras experimentam vários estressores sociais incluindo a separação do bezerro e o reagrupamento com um novo grupo de vacas após o parto, o que pode prejudicar seu bem estar.

O estresse tem muitas consequências que não são necessariamente idênticas a todos os animais ou a todos os estressores (Chebel et al., 2016). Quando um animal é exposto por um longo período de tempo ou em uma fase sensível de sua vida a um estímulo estressor, seja ele crônico ou intermitente, esse animal se torna suscetível a sofrer danos patológicos. Isso por que, com a exposição aos estímulos estressores, ocorre uma redistribuição dos leucócitos da circulação para os linfonodos e para a pele, como uma resposta adaptativa de proteção do animal (Proudfoot et al., 2012). De acordo com esses mesmos autores, quando os animais estão doentes, o cérebro inicia um conjunto de mudanças de comportamento para ajudar na recuperação da infecção. Ao

primeiro sinal de infecção, comunicadores do sistema imune sinalizam o cérebro para aumentar a temperatura corporal como forma de criar um ambiente prejudicial ao patógeno. Simultaneamente, como forma de conservar energia no organismo para abastecer a resposta febril e restaurar a resposta imune, um conjunto de mudanças comportamentais pode ser observada em animais doentes, que parecem fatigados e reduzem sua atividade geral, incluindo comportamentos sociais. À medida que tentamos cada vez mais melhorar o bem estar de animais através de estratégias de manejo adequadas, mantendo a sustentabilidade da produção de alimentos, uma abordagem holística deve ser tomada e a avaliação de respostas biológicas ao estresse deve ocorrer (Chebel et al., 2016). De acordo com esses autores, se situações de estresse social resultarem em mudanças no comportamento de alimentação e reduzirem o CMS, tais estressores podem exacerbar o balanço energético negativo durante o período de transição e predispor as vacas leiteiras a imunossupressão, distúrbios metabólicos e doenças.

Em vacas leiteiras, o tempo de ruminação é o principal atributo comportamental utilizado quando se desejam obter informações sobre condições de estresse, produtividade e saúde. Vacas leiteiras adultas ruminam 7 a 8 horas por dia (Adin et al., 2009), dependendo principalmente da composição da dieta e preferem desenvolver essa atividade enquanto estão deitadas (Schirmann et al., 2012). A importância do processo de ruminação se dá principalmente pela sua relação com a funcionalidade do rúmen (Gregorini et al., 2013), sendo considerado como um componente chave da digestão e consumo, tendo função primária de facilitar o desaparecimento da digesta do rúmen pela redução no tamanho das partículas com conseqüente modificação no consumo. Adicionalmente, devido à relação direta entre a ruminação e a salivação, modificações nos padrões de ruminação alteram o tamponamento do rúmen, podendo levar a quadros de acidose ruminal. Por isso, frequentemente o padrão diário de ruminação é apontado como um adequado parâmetro na detecção precoce de distúrbios metabólicos, principalmente aqueles relacionados ao período de transição (Bar & Solomon, 2010; Soriani et al., 2012; Van Herten et al., 2013; Pacheco et al., 2014), os quais são geralmente acompanhados por redução na produtividade e bem estar dos animais.

Dada à importância do comportamento de ruminação na manutenção da homeostase em ruminantes, esclarecer as mudanças fisiológicas associadas a esse é essencial, sendo necessários mais estudos para determinar os mecanismos envolvidos durante esse processo (Komatsu et al., 2014). Um estudo desenvolvido por Moallen et al. (2010) revelou que o tempo de ruminação desempenhou um papel essencial na identificação dos efeitos deletérios causados pelo estresse térmico em vacas leiteiras. Nesse estudo, uma análise de componentes principais indicou que o principal efeito negativo relacionado ao alto índice de temperatura e umidade é a redução do tempo de ruminação, o que posteriormente leva ao declínio no consumo, com posterior redução na produção de leite. Segundo esses autores, vacas acometidas por estresse térmico tem seu tempo de ruminação reduzido devido à queda na frequência e na amplitude das contrações ruminais, o que pode atrasar a passagem da digesta ao longo do trato digestivo, reduzindo a capacidade ruminal e, assim, o consumo. Esse resultado indica que nem sempre alterações no tempo de ruminação são

decorrentes da redução no consumo, como relatado por grande parte dos estudos relacionados ao comportamento ingestivo (Kaske et al., 2002; Almeida et al., 2008; Pacheco et al., 2014). Com base no papel que a ruminação desempenha na digestão e taxa de passagem pode-se esperar que a atividade de ruminação se relacione com o consumo de alimentos em vacas leiteiras. Por outro lado, o tempo de ruminação foi considerado significativo, mas com pequena contribuição nos modelos de previsão de CMS desenvolvidos por Clément et al. (2014).

A ruminação é negativamente associada com altos níveis de cortisol sanguíneos (Bristow & Holmes, 2007); por isso, eventos que causem estresse e dor podem afetar diretamente a função do rúmen via depressão central dos centros de controle da ruminação (Pacheco et al., 2014). Soriani et al. (2012), estudaram as relações entre o tempo de ruminação e o status de saúde de vacas leiteiras durante o período de transição e observaram que as vacas que ruminaram por menor tempo apresentaram alterações nos parâmetros sanguíneos, com maior quantidade de BHBA e maior incidência de doenças clínicas após o parto. Kaufman et al. (2017) demonstraram que as vacas diagnosticadas com cetose subclínica após o parto ruminaram menos em comparação com vacas saudáveis durante as semanas antes e depois do parto.

Com o intuito de avaliar o uso do tempo de ruminação durante o período de transição como uma ferramenta para precoce detecção de doenças, Calamari et al. (2014) observaram que 91% das vacas que apresentaram tempo de ruminação menor entre o dia 3 e o dia 6 após o parto, foram diagnosticadas com pelo menos uma doença, com a primeira manifestação clínica observada entre o dia 7 e o dia 12 após o parto. DeVries et al. (2009) estudaram o comportamento de vacas leiteiras desafiadas repetidamente com alto e baixo risco de acidose ruminal (relação volumoso concentrado de 60:40 e 45:55, respectivamente), e observaram que as vacas desafiadas com alto risco de acidose ruminaram em média 42 minutos a menos por dia. De acordo com os autores, a identificação da acidose se dá principalmente pela redução no consumo de matéria seca, a qual é difícil de ser diagnosticada em rebanhos que são alimentados em grupo, e sua identificação através de mudanças no comportamento parece ser mais apropriada. A atividade de mastigação estimula a secreção da saliva, que devido a seu poder tamponante é capaz de neutralizar os prótons e modificar o pH do rúmen. Devido a isso, o comportamento de ruminação é um parâmetro adequado a ser usado como um indicador no diagnóstico de acidose.

Com o objetivo de avaliar o desempenho de um sistema de monitoramento automatizado que combina tempo de ruminação e atividade para identificar vacas doentes, bem como o número de dias entre o primeiro alerta e o diagnóstico clínico da doença, Stangaferro et al. (2016a) observaram que o tempo de ruminação foi mais baixo para as vacas com alguma desordem metabólica ou digestiva do dia -5 ao dia do diagnóstico clínico e menor comportamento de atividade um dia antes do diagnóstico clínico, em especial para as vacas com mais baixo escore de saúde (maior gravidade dos distúrbios) em relação às vacas saudáveis. Na sequência desse estudo, Stangaferro et al. (2016b) observaram que o tempo de ruminação foi mais baixo para as vacas com mastite clínica no dia -1 em relação ao dia do diagnóstico clínico e o tempo

em atividade para essas vacas permaneceu mais baixo desde o dia -5 em relação ao diagnóstico comparado com as vacas saudáveis.

Outros descritores comportamentais, além do tempo de ruminação, também possuem potencial para serem utilizados na avaliação do estado de saúde de vacas leiteiras. A pesquisa desenvolvida por Sepulvedas-Varas et al. (2014), por exemplo, avaliou a relação entre o comportamento de descanso e a ocorrência de doenças em vacas em pastejo. Nesse estudo, os autores observaram associações entre o comportamento de descanso com o estado de saúde após o parto. As vacas que desenvolveram mais de uma doença clínica passaram mais tempo em descanso e tenderam a descansar por períodos mais longos nos dias seguintes ao parto em comparação com as vacas saudáveis.

Goldhawk et al. (2009) e Huzzey et al. (2007) constataram em seus estudos que vacas com cetose subclínica e com metrite moderada ingeriram menos alimento do que vacas saudáveis durante as 3 semanas após o parto. No estudo de Huzzey et al. (2007), as vacas foram alimentadas duas vezes por dia, criando dois picos de alimentação com maior disputa no cocho, porém as vacas em risco de metrite evitaram a alimentação durante estes períodos de pico, preferindo se alimentar em outros horários a fim de evitar competição com outras vacas. Um estudo com foco em vacas com cetose clínica no início da lactação mostrou mudanças no consumo e no comportamento alimentar, as quais ocorreram em média 3,6 dias antes do diagnóstico clínico (Gonzales et al., 2008). Neste estudo, as vacas doentes reduziram o consumo diário de alimentos, o tempo de alimentação diária e a taxa de alimentação. Dollinger & Kaufmann (2013) observaram que o número de visitas com alimentação dentro de cada refeição foi maior em animais com distúrbios clínicos, e segundo os autores, as vacas doentes evitam o estresse social e tendem a ser facilmente afastadas dos cochos por outras vacas, optando por se alimentar fora dos horários preferidos - normalmente logo após as ordenhas.

Em outro estudo sobre o comportamento social das vacas após o parto, Jensen & Proudfoot (2017) relataram que as vacas doentes foram menos propensas a deslocar outras vacas das áreas de descanso em comparação com vacas saudáveis e concluíram que vacas doentes podem ter evitado a disputa por melhores camas, não escolhendo a cama para descansar.

Não só as doenças clínicas causam alterações nos comportamentos alimentares, mas os transtornos subclínicos também têm um impacto no comportamento das vacas (Dollinger & Kaufmann, 2013). Azizi (2008) observou que as vacas com transtornos metabólicos subclínicos tiveram menor duração das refeições, do tempo diário de alimentação, tamanho de refeição e consumo diário de MS comparadas com vacas sem transtornos metabólicos subclínicos durante a segunda e terceira semana de lactação.

Na exploração leiteira, a capacidade de identificação ou prevenção das doenças que ocorrem durante o período de transição continua a ser um desafio (Huzzey et al., 2007). A detecção precoce é difícil e os métodos tradicionais geralmente se baseiam na identificação subjetiva pelos funcionários da fazenda (Sepulvedas-Varas et al., 2014). No entanto, a ausência de sintomas aparentes de algumas doenças e as dificuldades operacionais de acompanhamento individual das vacas em grandes fazendas impedem que as doenças na fase subclínica sejam diagnosticadas, podendo ocasionar sérios

problemas de saúde posteriormente (González et al., 2008; Weary et al., 2009). A implementação de programas de monitoramento automatizado do comportamento das vacas usando sensores não invasivos pode ajudar a reduzir os custos com monitoramento de saúde (Stangaferro et al., 2016a), e os dados gerados por sensores podem ser usados sozinhos ou associados a protocolos tradicionais para identificar vacas com distúrbios (Garro et al., 2014; Lukas et al., 2015). Além disso, o monitoramento contínuo de atributos comportamentais pode permitir a detecção de mudanças sutis antes dos sinais clínicos estarem evidentes, beneficiando as vacas e melhorando a resposta ao tratamento (Weary et al., 2009; Stangaferro et al., 2016a).

3. HIPÓTESES E OBJETIVOS

As hipóteses deste estudo são:

A inclusão de extrato de chá verde e de orégano na dieta de vacas Jersey, durante o período de transição, modifica o comportamento alimentar e a forma com que os animais interagem sem alterar o consumo de matéria seca.

A inclusão de extrato de chá verde e de orégano na dieta de vacas Jersey reduz a ocorrência de distúrbios metabólicos e doenças infecciosas relacionadas ao período de transição.

O aumento (ou redução) da oferta de alimento durante o pré parto, estimula a retomada no consumo de MS após o parto de vacas Holandesas, Gir e Girolandas F1 ($\frac{1}{2}$ Holandês $\frac{1}{2}$ Gir).

O controle do consumo de alimento durante o pré parto reduz a ocorrência de doenças e distúrbios metabólicos no início da lactação de vacas Holandesas, Gir e Girolandas F1 ($\frac{1}{2}$ Holandês $\frac{1}{2}$ Gir).

A utilização de diferentes planos nutricionais durante o pré parto modifica o comportamento ingestivo durante todo o período de transição de vacas Holandesas, Gir e Girolandas F1 ($\frac{1}{2}$ Holandês $\frac{1}{2}$ Gir).

O Objetivo geral foi:

Avaliar o efeito de diferentes planos nutricionais sobre o consumo, o comportamento ingestivo e social e a ocorrência de doenças infecciosas e distúrbios metabólicos de vacas leiteiras de diferentes composições raciais durante o período de transição.

Os objetivos específicos foram:

1. Avaliar o consumo e o comportamento alimentar e social de vacas leiteiras Jersey recebendo extrato de orégano e extrato de chá verde durante o período de transição.
2. Avaliar a ocorrência de distúrbios metabólicos e doenças infecciosas de vacas leiteiras Jersey recebendo extrato de orégano e extrato de chá verde durante o período de transição.

3. Avaliar o efeito do controle do consumo de alimento durante o pré parto sobre o consumo de MS após o parto de vacas Holandesas, Gir e Girolandas F1 ($\frac{1}{2}$ Holandês $\frac{1}{2}$ Gir).
4. Avaliar a ocorrência de doenças infecciosas e distúrbios metabólicos de vacas leiteiras Holandesas, Gir e Girolandas F1 ($\frac{1}{2}$ Holandês $\frac{1}{2}$ Gir) durante o período de transição sob dois planos nutricionais durante o pré parto.
5. Avaliar o efeito do controle do consumo de alimento durante o pré parto sobre o comportamento ingestivo durante o período de transição de vacas Holandesas, Gir e Girolandas F1 ($\frac{1}{2}$ Holandês $\frac{1}{2}$ Gir).

CAPÍTULO II

Addition of oregano or green tea extract for Jersey cows in transition period: feeding and social behavior, dry matter intake and health status.

Este capítulo é apresentado de acordo com as normas de publicação da **Animal**

Addition of oregano or green tea extract for Jersey cows in transition period: feeding and social behavior, dry matter intake and health status

S.C.B Stivanin¹, V Fischer^{1,a}, E.F Vizzotto¹, M. de Paris¹ M.B Zanela², L. Passos¹ and I.D.V Angelo¹

¹ *Department of Animal Science, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 91540-000, Rio Grande do Sul, Brazil.*

² *Brazilian Agricultural Research Corporation – Embrapa Temperate Climate, Capão do Leão, 96010-971, Rio Grande do Sul, Brazil.*

^a*Present adress: Department of Animal Science, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 91540-000, Rio Grande do Sul, Brazil.*

Corresponding author: Vivian Fischer. E-mail: vivinha.fischer@hotmail.com

Short title: Plant extracts for cows in the transition period

Abstract

This study aimed to evaluate the effects of feeding oregano (*Origanum vulgare*) or green tea (*Camellia sinensis* L.) extracts on feeding and social behavior, intake and health status of dairy cows during the transition period. Twenty-four Jersey cows with BW of 441 ± 27 kg, 3.5 ± 0.3 points of BCS and with 2.7 ± 1.8 lactations were randomly assigned to three treatments: control (**CON**), addition of 10 grams/day of oregano extract (**OE**) and 5 grams/day of green tea extract (**GT**). Dry matter intake (**DMI**) was evaluated from 7 days before calving until the 16

days of lactation using chromium oxide. Automatic collars were used to evaluate the daily behaviors of rumination, activity and rest throughout the experimental period. The other behaviors were assessed by visual observation at 10-min intervals. The occurrence of health problems was monitored daily. Dry matter intake before calving was not affected by treatments, but after calving, cows fed OE tended to eat 1.3 kg of DM more than CON. Before calving, during the daytime period, cows in OE tended to spend 55% less time lying down and spent 8.6 minutes less to eat the concentrate compared to GT. After calving, cows in OE spent 9.8 and 7.5 minutes less to eat the concentrate compared to GT and CON groups, respectively. The number of total visits to the feed trough was lower for cows in OE compared to the others. When GT was added to the diet, cows visited 3.3 times more the feeding trough before calving, tended to interact 1.2 times less with their group compared to OE, and interacted 1.6 times less than CON cows. Cows that received the plant extracts licked 2.7 times less feed trough and presented a less aggressive behavior compared to the CON group. The probability and number of occurrences of metabolic disorders and clinical and subclinical infectious diseases were similar among the groups, but cows in the OE group affected by some disease or disorder tended to present clinical or subclinical symptoms on average 7.9 days later than those in the GT group. The extracts of plants used did not affect the DMI and did not influence the occurrence and number of diseases, but the cows that received OE remained less time lying down before calving, spent less time to ingest the concentrate and had fewer total visits to the feed trough.

Keywords: catechins, carvacrol, plant extracts, efficiency, transition period

Implications

The physiological and metabolic changes that occur during the transition period affect the immune system and are the main causes of reduction of dry matter intake in this period predisposing animals to diseases and metabolic disorders besides behavioral changes. The dry matter intake, feeding efficiency and some attributes of feeding and social behavior were altered by the addition of extracts of oregano and green tea in the diet, but the health status was not improved with the doses used.

Introduction

The use of plant extracts as food additives for dairy cattle have been growing due to the concerns both for population health and animal welfare (Maciej *et al.*, 2016). Catechins and carvacrol are the main secondary metabolites produced by green tea and oregano plants, respectively (Manach *et al.*, 2004; Oh *et al.*, 2017). In humans and monogastric animals, both compounds have been used primarily as antibacterials, antidepressants and as powerful immune system and antioxidant stimulants (Aristatile *et al.*, 2015; Cyboran *et al.*, 2015; Gonçalves *et al.*, 2015), while in ruminants they are basically used as food additives because of their potential to modulate ruminal fermentation (Cobellis *et al.*, 2016; Oh and Histov, 2016; Kolling *et al.*, 2018).

The digestive process of ruminants alters the amount and biochemical structure the secondary compounds of plants reach the bloodstream (Gladine *et al.*, 2007). Previous studies indicate that they do not lose their functionality and, in ruminants, may stimulate the immune defense and the antioxidant systems

(Gabbi *et al.*, 2009a; Winkler *et al.*, 2015; Maciej *et al.*, 2016). However, this ability has been little explored during the transition period, when physiological and metabolic changes have great impact in the defense system of the organism, making dairy cows more susceptible to the occurrence of metabolic disorders and infectious diseases (Trevisi *et al.*, 2012; Garro *et al.*, 2014).

Some plant secondary compounds may also alter the expression of receptors for the neurotransmitters serotonin and dopamine (Trabace *et al.*, 2011; Zotti *et al.*, 2013; Mirza *et al.*, 2013), modifying the response of the animal to the environment. Of our knowledge, these changes has not yet been documented in ruminants supplemented with plant extracts but alterations in feeding behavior with increase or reduction in time to ingest the concentrate depending on the dose and the extract used and also in social behavior, with increased licking after feeding and reduction in the occurrence of aggressions during feeding have already been observed in dairy heifers by Gabbi *et al.* (2009b) and for Kolling *et al.* (2016).

Even though some studies have already evaluated the behavioral responses of ruminants receiving different plant extracts (Gabbi *et al.*, 2009b; Kolling *et al.*, 2016; Lejonklev *et al.*, 2016), we do not know information for dairy cows during the transition period. The effects of plant extracts on the immune system has also been evaluated (Gladine *et al.*, 2007; Gabbi *et al.*, 2009a), but its potential in reducing the occurrence of metabolic disorders and infectious diseases when fed at the most challenging stage of the milk production process yet is little explored. Our hypotheses are 1) the inclusion of green tea or oregano extracts in the diet during the transition period modifies the feeding and social behavior. 2) the inclusion of green tea extract or oregano in the diet reduces the

occurrence of metabolic disorders and infectious diseases related to transition period. The objective of this research was to evaluate the dry matter intake, feeding and social behavior and health status of dairy cows receiving oregano and green tea extracts during the transition period.

Material and methods

Location Description, Animals and Management

The experiment was conducted at Embrapa Clima Temperado, Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brazil between October 2015 and January 2016. The climate of the region is temperate, being classified by Köppen as subtropical humid. During the study, the mean values of air temperature, relative air humidity and wind speed were respectively (mean \pm SEM) 20.1 ± 0.5 °C, $85.3 \pm 1.6\%$ and 14.2 ± 0.9 km/h, and the cumulative rainfall during the whole experimental period was 847 mm (Table 1).

Twenty-four Jersey cows, selected from the experimental herd according to the number of parturitions, body weight (**BW**) and body condition score (**BCS**), were used from 28 days (-28) before calving to 21 (+21) days of lactation; the first 7 days were destined for the adaptation to the diet, and the remaining 42 days were for measurements. Before the study, for about 32 days, which comprised the beginning of the dry period up to the 28 days before calving, all cows grazed rangeland pasture improved with annual ryegrass (*Lolium multiflorum*), with free access to water and abundant natural shade provided by trees of several species.

The cows were randomly distributed in three treatments with eight animals each: Control (**CON**) - without addition of plant extracts in the diet, Oregano

Extract (**OE**) - addition of 10 g per cow per day of oregano extract in diet and Green Tea Extract (**GT**) – addition of 5 g per cow per day of green tea extract in diet. At the start of the study, cows from the CON treatment were, on average, with 3.0 ± 2.2 lactations, 444 ± 10 kg of BW and 3.3 ± 0.5 points of BCS; cows from the OE treatment, on average, with 2.7 ± 1.8 lactations, 420 ± 42 kg of BW and 3.6 ± 0.2 points of BCS and cows from the GT treatment, on average, with 2.5 ± 1.5 lactations, 459 ± 31 kg of BW and 3.6 ± 0.2 points of BCS.

During 28 days prior to calving, all cows were confined in a barn with rubber mattresses stalls, receiving a diet composed of 4.6 kg of DM per cow per day of corn silage and 3.9 kg of DM per cow per day of concentrate. Concentrate was composed of 43.0% of ground corn grain, 17.8% of wheat bran, 17.9% of soybean meal, 16.0% of ground soybeans and 5.3% of pre calving mineral salt in order to meet nutritional requirements of cows with 440 kg of BW at 260 days of gestation (NRC, 2001). During this period, the diet was given twice a day (0700 h and 1600 h).

From calving to 21 days of lactation, the cows grazed rangeland pasture improved with annual ryegrass (*Lolium multiflorum*) during the day (between morning and evening milking) and confined in a barn with rubber mattresses stalls at night (after the evening milking until the morning milking). Cows were fed approximately 4.0 kg of DM per cow per day of corn silage and 4.1 kg of DM per cow per day of concentrate composed of 61.0% of ground corn grain, 19.5% of wheat bran, 7.3% of soybean meal, 4.9% of ground soybeans, 4.9% of mineral and vitamin supplement, 0.5% of common salt, 0.7% of calcium carbonate and 2.4% de urea, in order to meet nutritional needs considering cows with 400 kg of BW, at the beginning of lactation and producing 16.4 kg of milk with 3.6% fat

(NRC, 2001). After calving, the concentrate was supplied twice daily before each milking (0700 h and 1600 h) and corn silage supplied after milking (1800 h). The cows were milked twice a day (0730 h and 1630 h). Pasture samples were collected weekly by grazing simulation (Euclides *et al.*, 1992) and along with samples of pre and post calving diet ingredients were analyzed for DM (Detmann *et al.*, 2012, method INCT-CA n° G-003/1), CP (method Kjeldahl), NDF (method Van Soest) and DMIVD (AOAC, 2011; Table 2).

In each trough, 0.5 kg of concentrate containing or not the plant extracts was top-dressed on the diet at the morning feeding. The oregano extract (Orego Stim® - Meriden Animal Health Ltda. - Northampton, UK, redistributed in Brazil by Advet Animal Nutrition containing 5% of essential oil of oregano plants (*Origanum vulgare* subsp. *Hirtum*) and 95% of inert substance) according to the manufacturer, had a minimum concentration of 50 g/kg containing 80-82% of Carvacrol, 2.5-3.0% of Tymol, 3.5-9.0% of p-Cymene and 2.0-5.0% of γ -Terpinene. The green tea extract had a concentration of approximately 56% (\pm 2.5%) of polyphenols.

Dry matter intake

The dry matter intake was evaluated from 7 days before calving until 16 days of lactation using chromium oxide (Cr_2O_3) as an external indicator of fecal production. The marker was provided from day -12 to day +16 in relation to calving day and fecal collections were performed from day -7 until day +16 in relation to calving day. The Cr_2O_3 was ministered in the amount of 10g/cow per day mixed to 0.5 kg of concentrate during the morning feeding, and fecal samples collected twice a day, before each milking (Kozloski *et al.*, 2006).

The concentration of chromium in dry faeces was determined by atomic absorption spectrophotometry, and the samples were previously digested using nitro-perchloric acids (Tedesco *et al.*, 1995). Faecal production (**FP**) was calculated as $FP = \text{chrome administered (g/day)} / \text{chrome in the faeces (g/kg DM)}$ according to Pond *et al.* (1989). Total dry matter intake (**TDMI**; g/day) was calculated as: $TDMI = (\text{DM total fecal} - (\text{DMI concentrate} \times (1 - \text{digestibility of concentrate}))) / (1 - \text{forage digestibility})$ and the forage dry matter intake (**FDMI**; g/day) was calculated as: $FDMI = (\text{DM total fecal}) / (1 - \text{forage digestibility})$. The *in vitro* digestibility of concentrate and forage was performed according to AOAC (2011). Feed efficiency was estimated as the DMI for each kg of milk produced and for each kg of milk produced corrected for energy and were calculated dividing the TDMI by milk production and milk corrected energy production, respectively. Milk production data was corrected for energy (energy corrected milk - **ECM**), using the formula $ECM = [(0.3246 \times \text{kg milk}) + (12.86 \times \text{kg fat}) + (7.04 \times \text{kg true protein})]$, true protein calculated as 95% of the milk crude protein (NRC, 2001) and milk fat and protein content determined by infrared spectrophotometry (Fonseca and Santos, 2000).

Performance and physiological characteristics

Milk production (kg) was recorded every day, at the morning and evening milking during the experimental period using DeLaval milk meter MM25. Animals were weighed weekly without previous fasting after milking in the morning but before feed was offered. The BCS was evaluated weekly after milking in the morning, being assigned to animals on a scale of 1 to 5 (Edmonson *et al.*, 1989).

Behaviour measurement

The daily behaviors of rumination, activity and rest were evaluated continuously throughout the experimental period, using automatic collars (C-tech/Chip Inside Engineering and Technology) fixed to the neck of the animals (Table 3). Each collar was equipped with accelerometer to monitor the acceleration of each animal for 24 hours without interruption, classifying data into rumination, activity or rest behavior. Data was stored in an internal memory and further transferred daily by radiofrequency to the management software (Healthy Cow Manager[®]) when cows passed close to portal installed at the exit of the milking parlor.

Other feeding behaviors such as time spent in the feed trough with and without food ingestion, time spent eating the concentrate and silage, concentrate and silage intake rates and the time spent grazing, standing up and lying down (Table 3) were assessed by visual and focal observation at 10-minute intervals (Martin and Bateson, 1993). During the five days before calving, from 0800 h to 1700 h the above listed behaviors and social behaviors: events of water intake, total visits to the feed trough, visits to the feed trough with and without food ingestion, duration of each visit to the trough with food ingestion, licking the trough, aggression events (aggressive behavior when disputing resources such as food and water) and non-aggressive interactions among animals were observed continuously and recorded whenever they occurred. On days 7, 14, and 21 after calving, in the time between morning and afternoon milking, from 0900 h to 1530 h, in addition to the above mentioned behaviors (except social behaviours and time spent in the feed trough with and without food ingestion, time spent eating the silage and silage intake rate), the daytime spent on grazing was

observed (Table 3). The animals of the different treatments had visual contact between each other and free access to water throughout the experiment. The activities performed during the locomotion of the animals between the stable and the milking parlor and during milking were not evaluated.

Health condition

The occurrence of clinical and subclinical health problems was monitored daily throughout the experimental period. Dystocia, defined as the use of obstetric care at calving (Johanson and Berger 2003) was not considered in this study, since in all cases it occurred due to the excessive body weight of the calves. Placental retention was defined as the inability to expel the placenta within 24 hours post calving (Sandals *et al.*, 1979). Clinical mastitis was characterized by the presence of abnormal milk (clot formation) and visible signs of inflammation such as redness and swelling of the udder. Metritis was assessed on the observation of vaginal discharge (Huzzey *et al.*, 2007) and the locomotion score was performed using the 5 point numerical classification system, where 1 = healthy, 5 = severely lame (Flower and Weary, 2006).

Blood samples were obtained from each cows via jugular venipunction using 5-ml tubes (Vacutainer; Becton-Dickinson, Rutherford, NJ) without anticoagulant on days 7, -4, -2, 0, 2, 4, 7, 14, 21 with respect to calving, before the morning feed delivery. Further blood samples were centrifuged at 2000 g for 10 minutes and the serum was used for analysis of hypocalcemia using commercial kits (Ca Arsenazo Liquiform, method colorimetric, Labtest Diagnóstica). Cases of subclinical and clinical hypocalcaemia were considered when the serum calcium concentration ranged from 5.5 to 8.0 mg/dL and below

5.5 mg/dL, respectively (Goff, 2008). In the evaluation of the occurrence of ketosis, the concentration of circulating β -hydroxybutyrate (BHBA) was determined by means of digital autoanalyzer (Free Style/Abbott). The thresholds used for the diagnosis of subclinical and clinical ketosis were blood concentrations of BHBA ≥ 1.2 mM and ≥ 3 mM, respectively (Garro *et al.*, 2014).

The total number of diseases and metabolic disorders was calculated as well as the period of time elapsed from calving until the diagnosis of the first disease or clinical or subclinical disorder.

Experimental design and statistical analysis

The experimental design was a completely randomized design, with repeated measures in time (days), with three treatments ($n = 3$, control, oregano extract and green tea extract) and 8 replicates (animals) in each treatment. Statistical analysis considered treatments, days of evaluation and treatment x day interaction as fixed effects, and animal and residue as random effects, using the SAS[®] MIXED procedure, version 9.4. A structural selection test was performed using the Bayesian information criterion (**BIC**). Covariance structures tested were compound symmetry, first-order autoregressive, toeplitz, and unstructured. Parity, BW and BCS measured at the beginning of the study (but before treatments started) were included in the model as covariates. Analysis of variance was performed to test the effect of the interactions. The contrasts CON x OE, CON x GT and OE x GT with adjusted one-tailed side Dunnett *P*-values were used to compare the means between treatments for all variables. The frequency of occurrence of metabolic disorders and infectious diseases was calculated by the FREQ procedure. The probability of occurrence of metabolic disorders and

infectious diseases was calculated using the GLIMMIX procedure. The variable pre calving silage intake rate was normally distributed and thus was transformed for natural logarithm. The attributes time spent resting during pre and post calving as well as the number of total visits to the trough, with and without feeding as well as the number of licking events, aggressions and interactions between animals were analyzed using non parametric statistics using *Wilcoxon* test. The significant differences were declared when $P < 0.05$ and a trend considered to exist if $0.05 < P < 0.10$.

Results

The treatment x days of evaluation interaction was not significant for any of the attributes evaluated in this study ($P > 0.05$). Body weight and BCS in the last 21 days of the dry period (pre calving) and in the first 21 days of lactation (post calving) were not altered by the use of plant extracts ($P > 0.10$; Table 4). Extracts of oregano and green tea did not influence ($P > 0.10$) BW and BCS losses, which averaged 12.5 kg of BW and 0.20 points of BCS after calving.

In the pre calving period, DMI was not affected ($0.05 < P < 0.10$) by treatments (Figure 2). The OE animals tended ($0.05 < P < 0.10$) to remain less time lying down during the day and to spend less time eating the concentrate than GT (Table 5).

After calving, OE cows tended ($0.05 < P < 0.10$) to ingest 1.3 kg more DM in relation to CON and showed a higher concentrate intake rate ($P < 0.05$; Figure 2), taking 9.8 and 7.5 minutes less to eating the concentrate than GT and CON cows, respectively (Table 6). The OE cows tended ($0.05 < P < 0.10$) to produce more milk corrected for energy (ECM) than the CON and produced 26.4% more

ECM than the GT (Table 6). The GT cows, in turn, tended to ingest more diet for each kg of ECM produced in relation to CON and ingested 34.1% more diet for each kg of ECM produced in relation to the OE (Table 6).

In the pre calving period, there were lower number of total visits to the feed trough and visits without food ingestion for OE compared to the CON and GT ($P < 0.05$). The animals of the GT treatment had a greater number of visits to the feed trough with food ingestion and tended to interact less with their group compared to animals from the OE treatment, besides to interacting less with their group in relation to CON animals (Table 7). Cows fed plant extracts licked the trough less often and presented lower number of aggression events in relation to the CON ($P < 0.05$) (Table 7). These attributes were not registered in the post calving period.

The probabilities of occurrence and number of metabolic disorders and infectious diseases were similar ($P > 0.10$) for cows fed plant extracts. The GT x OE contrast tended to be different ($0.05 < P < 0.10$) for the number of days until the first manifestation of diseases or metabolic disorders, with the first clinical or subclinical symptoms detected on average 7.9 days later (day 12.4 post calving) for cows from the OE in relation to the GT. No placenta retention, lame animals (locomotion score greater than 3) and clinical hypocalcemia were observed. The mean frequency of healthy animals (without any clinical or subclinical manifestations) was only 25% of the herd. On average, 54.2% of the animals were affected by at least one clinical disease, and 33.3% were affected by more than one disorder or disease, especially mastitis, metritis, subclinical hypocalcemia, clinical and subclinical ketosis (Figure 3).

Discussion

The present study was designed to evaluate oregano extract containing essential oils and green tea extract containing polyphenols as feed additives added into the diet of Jersey cows in the transition period. Oregano and green tea extracts have been tested in dairy cows for their potential to modulate dry matter intake, rumen metabolism, behavioral responses and the immune system (Winkler *et al.*, 2015; Kolling *et al.*, 2016; Lejonklev *et al.*, 2016; Kolling *et al.*, 2018). In the present study, we highlight positive effects of the supply of oregano extract on the DMI, as well as changes in feeding and social behavior when oregano and green tea is supplied to dairy cows in the transition period, which is the main contribution of our research.

After calving, the energy demand for maintenance and lactation usually exceeds amounts consumed, predisposing dairy cows, especially those of high production, to the negative energy balance (Bauman and Currie, 1980), with mobilization mainly of adipose tissue and loss of body weight and body condition. Our results show significant losses of BW and BCS, on average 12.5 ± 5.5 kg BW and 0.20 ± 0.05 BCS points in the first 21 days post calving regardless of the use of plant extracts. In addition, BCS loss seems to have stabilized after the second week of lactation (Figure 1).

Natural food additives such as plant extracts, in order to be considered as effective in animal feed, should not be detrimental to food consumption (Cobellis *et al.*, 2016). Results about DMI in the present study, for GT and OE maintaining DMI (as for GT) or even tendend to increasing it in 1.3 kg (OE) counteract others studies showing lower DMI (Peraskevakis, 2015; Lejonklev *et al.*, 2016). The

tendency of increase in DMI post calving when OE was used is an encouraging response in view of the importance of stimulating intake of dairy cows in the first weeks after calving (Drackley and Cardoso, 2014). The positive effect on DMI may have occurred due to the tendency of production of 2.5 kg more milk and 3.0 kg more ECM even with a similar feed conversion for OE cows compared to CON. Additionally, cows in OE, spent less time eating the concentrate and consequently had a higher concentrate intake rate post calving, in relation to CON, may have contributed to the observed trend of higher DMI for cows in OE. This effect may be linked to the ability of the essential oils present in oregano in modify receptors for well being in the central nervous system (Trabace *et al.*, 2011). Gabbi *et al.* (2009b) also observed a faster concentrate intake for dairy heifers supplemented with 1 g/day of a blend of essential and attributed this result to the depressant effect of essential oils on the central nervous system combined with the feeling of well being conditioned by the offering of food to the animals.

The increase of 1.3 kg in the DMI of the OE treatment cows in relation to CON was not enough to significantly modify the daily rumination time even if cows have ruminated numerically more time when receiving OE. The variation in DMI and the time spent ruminating between and within cows and days may affect the relationships between these parameters and therefore, the daily time spent in rumination activity as presented is a poor indicator of DMI (Schirmann *et al.*, 2012).

The plant extracts are aromatic compounds and therefore can affect the characteristics of the food as taste, odor, and, consequently, its palatability (Lambert *et al.*, 2001; Hristov *et al.*, 2013). Each plant species has different aromatic compounds, and green tea contains tannins and alkaloids (Camparoto

et al., 2002), which can confer bitter taste and astringency, explaining the tendency of longer time spent eating the concentrate in the pre calving and the longer time spend eating the concentrate post calving for OE cows in relation GT.

The higher production of energy corrected milk (ECM) and the tendency of lower DMI per kg of ECM produced for cows in the OE group compared to those in the GT group may have occurred due to the beneficial effects of carvacrol on ruminal fermentation, efficiency of nutrient use and reduction in the production of methane and ammonia due to the antimicrobial activity of this compound, which is present in great amount in oregano extract (Oh and Histov 2016; Cobellis *et al.*, 2016; Kolling *et al.*, 2018). The hydroxyl group of the phenolic structure present in carvacrol of the oregano extract, give it greater effectiveness as an antibacterial, especially on gram-positive bacteria (methane producers), compared to other secondary plant metabolites (Ultee *et al.*, 2002) such as green tea catechins, for example. Due to this, oregano has been studied as an alternative to improve ruminal fermentation, with reduction of methane production and nutrient use efficiency (Tekippe *et al.*, 2011; Oh and Histov 2016; Kolling *et al.*, 2018). When green tea extract is used in the ruminant diet, changes in the ruminal environment are variable. Kolling *et al.* (2018) reported a reduction in methane production when 5 g/day of green tea extract was fed to lactating cows. The concentration of volatile fatty acids and nitrogen in the rumen on the other hand was not influenced by the addition of 20% of the DM of green tea silage to the diet of dairy heifers (Nischida *et al.*, 2006) as well as *in vitro* gas production using 20 or 40 mg of catechins (main component of green tea) per liter of ruminal fluid (Wein *et al.*, 2016). Green tea extract contains tannins (Camparoto *et al.*, 2002) which, due to the ability to form complexes with proteins and sugars can

cause negative effects on the digestibility of nutrients, reducing their use (Szumacher-Strabel and Ciésłak, 2012). Nutrient digestibility of the diet was not measured in this study, but a reduction in digestibility when GT is added to diet could justify the tendency for lower feed conversion observed for GT cows in relation to CON, encouraging further research in the area.

The catechins and carvacrol present in green tea and oregano extracts, respectively, when regularly ingested may interact with some receptors in the central nervous system altering the concentrations of the neurotransmitters dopamine and serotonin (Mirza *et al.*, 2013; Zotti *et al.*, 2013) triggering improvements in cognitive and emotional processes and providing feelings of well being (Mirza *et al.*, 2013). In monogastric species, more specifically in rats, carvacrol present in the oregano extract is capable of acting in the central nervous system stimulating the 5-HT receptors of the serotonin neurotransmitter, causing increased immobility (Trabace *et al.*, 2011). The catechins present in green tea, on the other hand, modulate the activity of GABA-A receptors that are related to anxiety (Mirza *et al.*, 2013), stimulating the behavior of locomotion and exploration of the environment. For ruminants, the literature does not yet report on the stimulus to these receptors as well as on the concentration of the neurotransmitters serotonin and dopamine when oregano or green tea extracts are ingested. The concentration of these neurotransmitters was not measured in our study, but they may be linked to the reduction of aggressive behavior and the observed trough licking events for the GT and OE groups in relation to the CON. The lower number of total visits and visits to the trough without food ingestion performed by the cows of the OE group may indicate increased immobility, while the higher number of visits to the trough with food ingestion

performed by cows from the GT group in relation to OE, indicates greater activity behavior and environment exploration, in accordance with the statements of Trabace *et al.* (2011) and Mirza *et al.* (2013). However, the tendency of longer time spent lying down during the day in the pre calving observed for the cows of the GT treatment compared to the OE treatment, as well as the lower number of interaction events for the cows of the GT group compared to those of the CON group and the tendency of lower number of interaction events for the cows of the GT group in relation to OE, oppose to the findings obtained in monogastric animals. When comparing research developed in monogastric animals with ruminants, it is necessary to consider the differences of the digestive system. In monogastric, these secondary metabolites are partially degraded and absorbed in the small intestine (Starp *et al.*, 2006) reaching the bloodstream and performing their cellular functions. In the digestive tract of ruminants, carvacrol may undergo bioconversion by rumen microflora (Schlichtherle-Cerny *et al.*, 2004) and may be absorbed through the rumen wall into the bloodstream (Malecky *et al.*, 2009), while only secondary metabolites of catechins reach the bloodstream (Gladine *et al.*, 2007; Wein *et al.*, 2016). However, the changes in dietary and social behavior observed in the present study together with the maintenance of beneficial health benefits observed by other authors (Gladine *et al.*, 2007; Malecky *et al.*, 2009) provide evidences that some of these compounds escape ruminal fermentation and reach the bloodstream so that the secondary metabolites generated by the digestion of these compounds in ruminants exert beneficial properties.

During the transition period dairy cows face numerous physiological and metabolic changes such as reduction in circulating levels of glucose and insulin (Sordillo and Raphael, 2013), increase in growth hormone concentration with

decoupling of the somatotrophic axis (Leroy *et al.*, 2008) besides increased concentrations of glucocorticoids and catecholamines (Weber *et al.*, 2001). All these changes occur in order to support pregnancy and then ensure the initiation of lactation, and have direct action on the immune system, predisposing animals to the occurrence of diseases (Sordillo and Raphael, 2013). One of the hypotheses of the present study, that extracts of oregano and green tea would improve the state of health of the animals was not confirmed. Activation of the cells of the innate immune system could accelerate the process of phagocytosis, reduce the inflammatory process (Alexander, 2002) and increase the action of antioxidant enzymes part of the internal defense system such as superoxide dismutase (**SOD**) and catalase (**CAT**) and glutathione peroxidase (**GPx**) (Gladine *et al.*, 2007; Maciej *et al.*, 2016). This effect was not observed and even when the plant extracts were fed, only 25% of the cows remained healthy during the evaluated period, with no differences between the treatments. The small number of animals included in the study combined with the high coefficient of variation of disease occurrence and metabolic disturbances data may have prevented the detection of significant differences between the treatments tested. The effect of the use of extracts on dietary and social behavior is an indication that in ruminants these compounds are also absorbed and reach the bloodstream, but perhaps because the transition period is a very challenging phase in animal health, higher doses could have been more efficient in stimulating the immune system and antioxidant.

Conclusions

Oregano extract presents beneficial effect on DMI and concentrate intake rate of dairy cows in the first weeks after calving. Green tea extract does not influence DMI and feeding behavior. Cows fed oregano extract produce more milk and are more efficient in producing milk than cows fed green tea extract. Plant extracts do not reduce the occurrence of diseases and metabolic disorders, but the intake of these compounds makes the cows less aggressive.

Acknowledgements

The authors thank to Brazilian National Research Council - CNPq 473562 / 2012-0 for the research and fellow research grants, to the Brazilian Agricultural Research Corporation - EMBRAPA Temperate center for providing the animals, structure and employees for the experiment, CAPES for fellow research grants and to Mr. Ivan dos Santos for the supply of the oregano extract.

Ethics statements

This study was approved by the Ethics Committee for the Use of Farm Animals from the Universidade Federal do Rio Grande do Sul, protocol number 29838.

References

Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 2011. Official methods of analysis, 18th edition. AOAC, Arlington, VA, USA.

Alexander M 2002. Aromatherapy and immunity: how the use of essential oils aids immune potentiality. *International Journal of Aromatherapy* 12, 49-56.

Aristatile B, Al-Numair KS, Al-Assaf A, Veeramani C and Pugalendi KV 2015. Protective effect of carvacrol on oxidative stress and cellular DNA damage induced by UVB irradiation in human peripheral lymphocytes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 29, 497-507.

Bauman DE and Currie WB 1980. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of Dairy Science* 63, 1514–1529.

Camparoto ML, Teixeira RDO, Mantovani MS and Vicentini VEP 2002. Effects of *Maytenus ilicifolia* Mart. and *Bauhinia candicans* Benth infusions on onion root-tip and rat bone-marrow cells. *Genetics and Molecular Biology* 25, 85-89.

Cobellis G, Trabalza-Marinucci M and You Z 2016. Critical evaluation of essential oils as rumen modifiers in ruminant nutrition: A review. *Science of the Total Environment* 545, 556-568.

Cyboran S, Strugała P, Włoch A, Oszmiański J and Kleszczyńska H 2015. Concentrated green tea supplement. Biological activity and molecular mechanisms. *Life Sciences* 126, 1-9.

Detmann E, Souza MA, Valadares Filho SC, Queiroz AC, Berchielli TT, Saliba EOS, Cabral LS, Pina DS, Ladeira MM and Azevêdo JAG 2012. *Métodos para análise de alimentos*, 1th ed. Suprema, Visconde do Rio Branco, MG, Brazil.

Dracley JK, Cardoso FC 2014. Prepartum and postpartum nutritional management to optimize fertility in high-yielding dairy cows in confined TMR systems. *Animal* 8, 5-14.

Drackley JK 2008. Steady as She Goes. Rethinking Dry Cow Nutrition. In *Proceedings of the Mid-South Ruminant Nutrition Conference*. Arlington, Texas.

Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T and Webster G 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 72, 68-78.

Euclides VPB, Macedo MCM and Oliveira MP 1992. Avaliação de diferentes métodos para se estimar o valor nutritivo de forragens sob pastejo. *Revista Brasileira de Zootecnia* 21, 691-702.

Flower FC and Weary DM 2006. Effect of hoof pathologies on subjective assessments of dairy cow gait. *Journal Dairy Science* 89, 139–146.

Fonseca LFL and Santos MV 2000. *Qualidade do leite e controle da mastite*. Lemos Editorial, São Paulo, Brasil.

Gabbi AM, Moraes RS, Skonieski FR and Viégas J 2009b. Productive performance and behavior of dairy heifers submitted to diets with phytogenic additive. *Brazilian Journal of Health and Animal Production* 10, 949-962.

Gabbi AM, Viégas J and Moraes RS 2009a. Hematological parameters of dairy heifers submitted to diets with phytogenic additives. *Brazilian Journal of Health and Animal Production* 10, 917-928.

Garro CJ, Mian L and Cobos Roldán M 2014. Subclinical ketosis in dairy cows: prevalence and risk factors in grazing production system. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 98, 838-844.

Gladine C, Rock E, Morand C, Bauchart D and Durand D 2007. Bioavailability and antioxidant capacity of plant extracts rich in polyphenols, given as a single acute dose, in sheep made highly susceptible to lipoperoxidation. *British Journal of Nutrition* 98, 691-701.

Goff JP 2008. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal* 176, 50–57.

Gonçalves G, Sá-Nakanishi AB, Wendt MMN, Comar JF, Amado CAB, Bracht A and Peralta RM 2015. Green tea extract improves the oxidative state of the liver and brain in rats with adjuvant-induced arthritis. *Food and Function* 6, 2701-2711.

Hristov AN, Lee C, Cassidy T, Heyler K, Tekippe JA, Varga GA, Corl B and Brandt RC 2013. Effect of *Origanum vulgare* L. leaves on rumen fermentation, production, and milk fatty acid composition in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 96, 1189-1202.

Huzzey JM, Veira DM, Weary DM and Von Keyserlingk MAG 2007. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. *Journal of Dairy Science* 90, 3220-3233.

Johanson JM and Berger PJ 2003. Birth weight as a predictor of calving ease and perinatal mortality in Holstein cattle. *Journal of Dairy Science* 86, 3745-55.

Kolling GJ, Panazzolo DM, Gabbi AM, Stumpf MT, Passos MBD, Cruz EAD and Fischer V 2016. Oregano extract added into the diet of dairy heifers changes feeding behavior and concentrate intake. *The Scientific World Journal* 2016, 6.

Kolling GJ, Stivanin SCB, Gabbi A, Machado F, Ferreira A, Campos M, Tomich T, Cunha C, Dill S, Pereira LG and Fischer V 2018. Performance and methane emissions in dairy cows fed oregano and green tea extracts as feed additives. *Journal of Dairy Science* 101, 1-14.

Kozloski GV, Perez D, Oliveira L, Maixner AR, Leite DT, Maccari M, Brondani IL, Sanchez LMB and Quadros LF 2006. Chromium oxide use as a marker for measuring fecal production of grazing cattle: estimative variations due to sampling schedule. *Ciência Rural* 36, 599-603.

Lambert RJW, Skandamis PN, Coote PJ and Nychas GJ 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology* 91, 453-462.

Lejonklev J, Kidmose U, Jensen S, Petersen MA, Helwing ALF, Mortensen G and Larsen MK 2016. Effect of oregano and caraway essential oils on the production and flavor of cow milk. *Journal of Dairy Science* 99, 7898-7903.

Leroy JLMR, Van Soom A and Opsomer G 2008. Reduced fertility in high-yielding dairy cows: Are the oocyte and embryo in danger? Part II. *Reproduction in Domestic Animals* 43, 623-632.

Maciej J, Schäff CT, Kanitz E, Tuchscherer A, Bruckmaier RM, Wolfram S and Hammon HM 2016. Short communication: Effects of oral flavonoid supplementation on the metabolic and antioxidative status of newborn dairy calves. *Journal of Dairy Science* 99, 805-811.

Malecky M, Broudiscou LP and Schmidely P 2009. Effects of two levels of monoterpene blend on rumen fermentation, terpene and nutrient flows in the duodenum and milk production in dairy goats. *Animal Feed Science and Technology* 154, 24-35.

Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C and Jiménez L 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79, 727-747.

Martin P and Baterson P 1993. *Measuring behavior: an introductory guide*, 2th ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Mirza B, Ikram H, Bilgrami S, Haleem DJ and Haleem MA 2013. Neurochemical and behavioral effects of green tea (*camellia sinensis*): A model study. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Science* 26, 511-516.

Nishida T, Eruden B, Hosada K, Matsuyama H, Nakagawa K, Miyazawa T and Shioya S 2006. Effects of Green Tea (*Camellia sinensis*) Waste Silage and Polyethylene Glycol on Ruminal Fermentation and Blood Components in Cattle. *Asian-Australasian Journal Animal Science* 19, 1728–1736.

National Research Council (NRC) 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th revised edition. National Academy Press, Washington, DC, USA.

Oh J and Hristov AN 2016. Effects of plant-derived bio-active compounds on rumen fermentation, nutrient utilization, immune response, and productivity of ruminant animals. *Medicinal and Aromatic Crops: Production, Phytochemistry, and Utilization*. Oxford University Press Inc, Madson, NY, USA.

Oh J, Wall EH, Bravo DM and Hristov AN 2017. Host-mediated effects of phytonutrients in ruminants: A review. *Journal of Dairy Science* 100, 1–10.

Paraskevakis N 2015. Effects of dietary dried Greek Oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) supplementation on blood and milk enzymatic antioxidant indices, on milk total antioxidant capacity and on productivity in goats. *Animal Feed Science and Technology* 209, 90-97.

Pond KR, Ellis WC, Matis JH and Deswysen AG 1989. Passage of chromium-mordanted and rare earth-labeled fiber: time of dosing kinetics. *Journal Animal Science* 67, 1020-1028.

Sandals WCD, Curtis RA, Cote JF and Martin SW 1979. The effect of retained placenta and metritis complex on reproductive performance in dairy cattle—a case control study. *The Canadian Veterinary Journal* 20, 131.

Schirmann K, Chapinal N, Weary DM, Heuwieser W and Von Keyserlingk MA 2012. Rumination and its relationship to feeding and lying behavior in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 95, 3212-3217.

Schlichtherle-Cerny H, Imhof M, Fernandez Garcia E and Bosset JO 2004. Changes in terpene composition from pasture to cheese. *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene* 95, 681–688.

Sordillo LM and Raphael W 2013. Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice* 29, 267-278.

Starp C, Alteheld B and Stehle P 2006. Characteristics of (+)-catechin and (–)-epicatechin transport across pig intestinal brush border membranes. *Annals of Nutrition and Metabolism* 50, 59-65.

Szumacher-Strabel M and Cieślak A 2012. Dietary possibilities to mitigate rumen methane and ammonia production. In *Greenhouse gases capturing, utilization and reduction* (Ed. Gouxiong Leu), pp. 199-238. InTech, Open Access Publisher, Rijeka, Croatia.

Tedesco MJ and Volkweiss SJ 1995. *Análise de solo, plantas e outros materiais*. 2th edição. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Solos, Porto Alegre, RS, Brasil.

Tekippe E, Hristov NA, Heyler KS, Cassidy TW, Zheljzakov VD, Ferreira JFS, Karnati SK and Varga GA 2011. Rumen fermentation and production effects of *Organum vulgare* leaves in lactating cows. *Journal of Dairy Science* 94, 5065-5079.

Trabace L, Zotti M, Morgese MG, Tucci P, Colaianna M, Schiavone S and Cuomo V 2011. Estrous cycle affects the neurochemical and neurobehavioral profile of carvacrol-treated female rats. *Toxicology and Applied Pharmacology* 255, 169-175.

Trevisi E, Amadori M, Cogrossi S, Razzuoli E and Bertoni G 2012. Metabolic stress and inflammatory response in high-yielding, periparturient dairy cows. *Research in Veterinary Science* 93, 695-704.

Ultee A, Bennik MHJ and Moezelaar R 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology* 68, 1561-1568.

Weber PS, Madsen SA, Smith GW, Ireland JJ and Burton JL 2001. Pre-translational regulation of neutrophil L-selectin in glucocorticoid-challenged cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 83, 213-240.

Wein S, Beyer B, Gohlke A, Blank R, Metges CC and Wolffram S 2016. Systemic absorption of catechins after intraruminal or intraduodenal application of a green tea extract in cows. *PloS One* 11, e0159428.

Winkler A, Gessner DK, Koch C, Romberg FJ, Dusel G, Herzog E and Eder K 2015. Effects of a plant product consisting of green tea and curcuma extract on milk production and the expression of hepatic genes involved in endoplasmic stress response and inflammation in dairy cows. *Archives of Animal Nutrition* 69, 425-441.

Zotti M, Colaianna M, Morgese MG, Tucci P, Schiavone S, Avato P and Trabace L 2013. Carvacrol: from ancient flavoring to neuromodulatory agent. *Molecules* 18, 6161–6172.

Table 1 Mean and amplitude of air temperature ($^{\circ}\text{C}$), relative air humidity (%), wind speed (km/h) and precipitation (mm/day) during the experimental period

Month	Temperature		Humidity		Wind speed		Precipitation
	Mean	Amplitude	Mean	Amplitude	Mean	Amplitude	
October	16.3	21.1 – 4.1	88.9	97.0 – 73.3	35.1	54.7 – 24.1	315.2
November	18.9	22.6 – 15.6	84.3	96.4 – 72.0	8.6	17.0 – 3.5	192.3
December	22.1	25.3 – 17.3	83.7	94.9 – 52.8	6.9	12.8 – 0.0	262.0
January	23.2	25.1 – 21.1	84.5	95.9 – 70.8	6.2	13.4 – 2.0	77.5

Table 2 *Ingredients and chemical composition of the diets fed to the cows during the transition period*

Item	Pre calving diets ¹			Post calving diets ¹		
	CON	GT	OE	CON	GT	OE
Ingredients (kg/100 kg)						
Corn silage	54.1	54.1	54.1	39.5	39.5	39.5
Pasture	-	-	-	19.8	19.8	19.8
Ground corn grain	19.7	19.7	19.7	24.7	24.7	24.7
Wheat bran	8.2	8.2	8.2	7.8	7.8	7.8
Soybean meal	8.2	8.2	8.2	3.0	3.0	3.0
Ground soybeans	7.3	7.3	7.3	1.9	1.9	1.9
Pre calving mineral salt	2.4	2.4	2.4	-	-	-
Mineral and vitamin supplement	-	-	-	1.9	1.9	1.9
Urea	-	-	-	1.0	1.0	1.0
Common salt	-	-	-	0.2	0.2	0.2
Calcium carbonate	-	-	-	0.3	0.3	0.3
OE	-	-	5.6	-	-	5.6
GT	-	2.8	-	-	2.8	-

Chemical composition (g/100 g of diet DM)

	Pre calving diets	Post calving diets
CP	14.7	15.0
NDF	50.8	35.6
DMIVD	72.0	73.1

¹ CON = control; GT = 5 g/day of green tea extract; OE = 10 g/day of oregano extract.

CP = crude protein; NDF = neutral detergent fiber; DMIVD = dry matter in vitro digestibility.

Table 3 *Ethogram describing the evaluated behavioral activities*

Behavioral characteristics	Description of activities
Rumination time	Time spent with chewing movements of the ruminal bolus (minutes)
Rest time	Time spent without presence of mandibular movements (minutes)
Activity time	Time spent on movement and displacement (minutes)
Standing up time	Time spent standing (minutes)
Lying down time	Time spent with the flank in contact with the floor (minutes)
Time spent in the feed trough	Time spent ingesting and handling food (minutes)
Grazing time	Time spent seizing and chewing fresh pasture during grazing activity (minutes)
Time spend eating the concentrate or silage	Effective time spent ingesting the concentrate or silage without pauses (minutes)
Concentrate or silage intake rate	Amount in grams of MS of concentrate or silage consumed per minute of the time of ingestion
Number of visits to the trough	Total number of times that the cows visited the troughs
Number of visits to the trough with food ingestion	Number of times the cows consumed food when accessing the troughs
Number of visits to the trough without food ingestion	Number of times the cows visited the troughs without food consumption
Duration of each visits to the trough with food ingestion	Dwell time at each visit to the troughs with food consumption (minutes)

Event lick the trough	Number of events in which the cows licked the trough
Events of social interactions	Actions of approach and positive contact between animals
Events of aggression	Actions of intimidation or confrontation with other animals

Table 4 Means for body weight and body condition score (BCS) of cows fed control (CON), oregano extract (OE) and green tea extract (GT) during the transition period

Variable	Diets			SEM	P – values for Contrast		
	CON	OE	GT		CON x OE	CON x GT	OE x GT
Body weight (Kg)							
Pre calving	446.2	448.0	446.1	3.9	0.75	0.98	0.75
Post calving	406.2	422.3	415.8	6.4	0.10	0.29	0.50
Post calving loss	-9.2	-10.8	-17.4	5.5	0.85	0.32	0.45
BCS							
Pre calving	3.50	3.58	3.50	0.05	0.38	0.97	0.38
Post calving	3.34	3.34	3.32	0.06	0.94	0.81	0.88
Post calving loss	-0.17	-0.23	-0.19	0.05	0.39	0.80	0.54

SEM = Standard error of the mean.

Table 5 Means for dry matter intake and feeding behavior during the pre calving period of cows fed control diet (CON) or diets containing oregano extract (OE) and green tea extract (GT)

Variable ¹	Diets			SEM	P – values for Contrast		
	CON	OE	GT		CON x OE	CON x GT	OE x GT
	DMI (Kg)	8.0	8.4		8.1	0.3	0.27
Rumination daily (min)	458.4	518.8	461.0	25.1	0.11	0.94	0.12
Rest daily (min)	862.2	885.8	843.2	42.2	0.82	0.58	0.44
Activity daily (min)	124.4	93.9	124.3	15.6	0.19	0.99	0.19
Standing up diurnal (min)	347.3	378.4	346.5	14.9	0.15	0.97	0.16
Lying down diurnal (min)	54.1	24.4	62.4	13.9	0.14	0.67	0.08
In the feed trough (min)	149.5	137.7	144.5	10.8	0.47	0.76	0.69
Eating the concentrate (min)	22.7	20.0	28.6	2.8	0.51	0.15	0.05
Eating the silage (min)	126.6	117.6	115.6	10.7	0.59	0.50	0.91
CIR (g of DM/min)	0.17	0.18	0.16	0.01	0.48	0.74	0.33
SIR (g of DM/min)	38.0	41.5	41.7	4.5	0.48	0.60	0.89

¹ Variable: DMI = dry matter intake; CIR = concentrate intake rate; SIR = silage intake rate.

SEM = Standard error of the mean.

Table 6 Means for dry matter intake and feeding behavior during post calving cows fed control diet (CON) or diets containing oregano extract (OE) and green tea extract (GT)

Variable ¹	Diets			SEM	P – values for Contrast		
	CON	OE	GT		CON x OE	CON x GT	OE x GT
DMI (Kg)	9.1	10.4	9.2	0.5	0.08	0.82	0.12
Milk production (kg)	16.1	18.6	13.8	0.9	0.07	0.06	<0.01
Production of ECM (kg)	16.7	19.7	14.5	1.2	0.09	0.19	<0.01
DMI per kg of milk (kg/kg)	0.59	0.57	0.83	0.08	0.82	0.04	0.03
DMI per kg of ECM (kg/kg)	0.57	0.54	0.82	0.1	0.83	0.09	0.07
Rumination daily (min)	434.8	470.6	463.1	21.1	0.26	0.35	0.81
Rest daily (min)	649.2	639.4	632.0	23.7	0.48	0.12	0.43
Activity daily (min)	356.0	329.9	344.9	17.9	0.29	0.64	0.54
Standing up diurnal (min)	38.0	45.2	42.9	8.5	0.57	0.69	0.86
Lying down diurnal (min)	39.7	72.8	74.4	23.8	0.36	0.31	0.97
Grazing (min)	309.4	274.6	271.0	18.8	0.22	0.16	0.90
Eating the concentrate (min)	27.3	19.8	29.4	2.1	0.02	0.49	0.01
CIR (g of DM/min)	0.17	0.24	0.14	0.02	0.01	0.29	<0.01

¹ Variable: DMI = dry matter intake; ECM = energy corrected milk; CIR = concentrate intake rate.

SEM = Standard error of the mean.

Table 7 Means for social behavior during pre calving cows fed a control diet (CON) or diets containing oregano extract (OE) and green tea extract (GT)

Variable	Diets			SEM	P – values for Contrast		
	CON	OE	GT		CON x OE	CON x GT	OE x GT
Visits to the feed trough (n°)	13.9	10.4	16.2	2.2	<0.01	0.57	<0.01
Visits with food ingestion (n°)	7.9	7.0	10.3	1.9	0.42	0.16	0.04
Visits without food ingestion (n°)	6.0	3.4	5.9	1.3	<0.01	0.50	0.01
Duration of each visits to the trough with food ingestion (min)	20.9	19.8	16.2	4.3	0.86	0.45	0.59
Licking the trough (n°)	3.5	1.2	1.4	1.0	0.02	0.03	0.87
Social interactions (n°)	2.5	2.1	0.9	0.5	0.32	<0.01	0.08
Aggression (n°)	5.2	2.7	2.8	0.8	<0.01	0.04	0.27

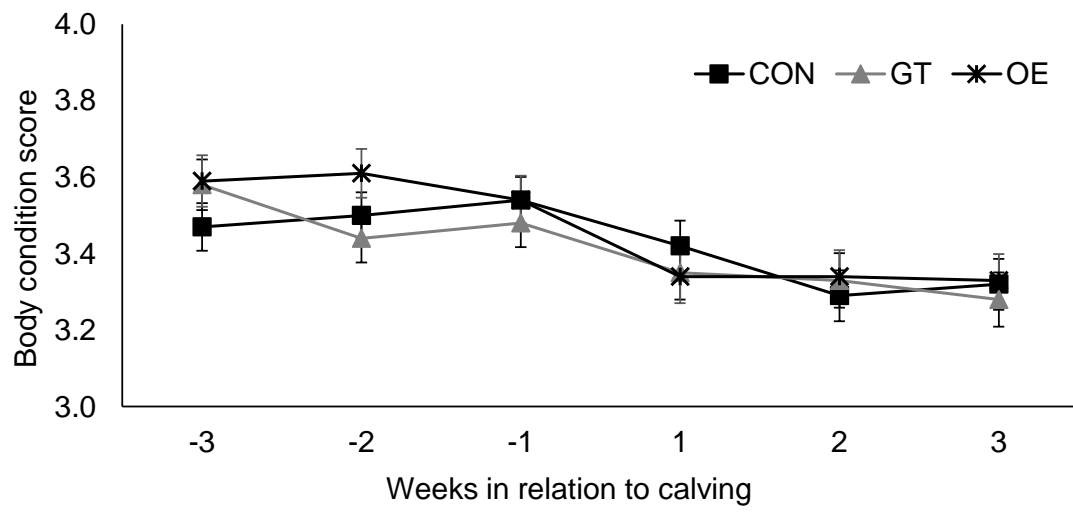
SEM = Standard error of the mean

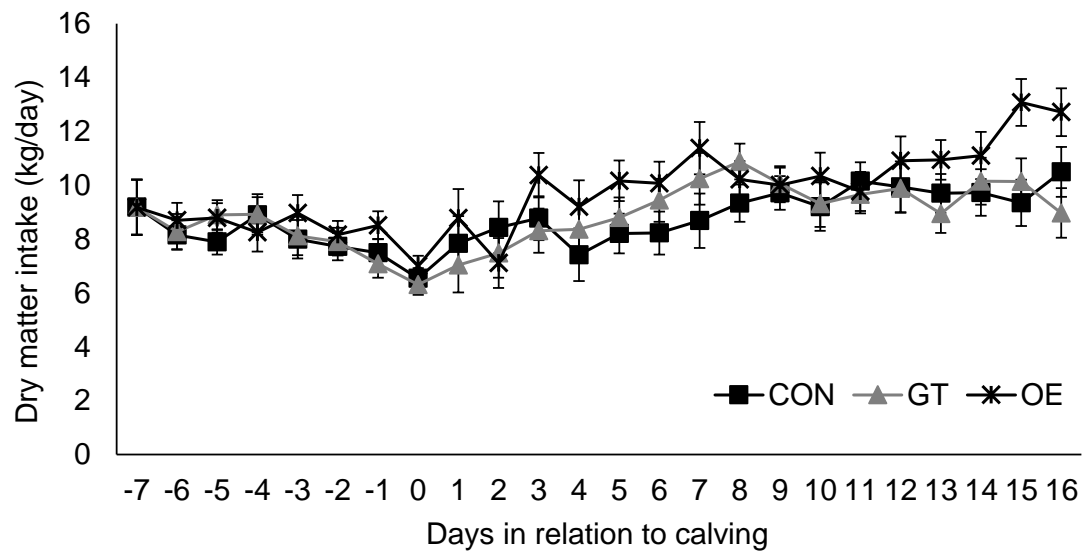
Figure Caption

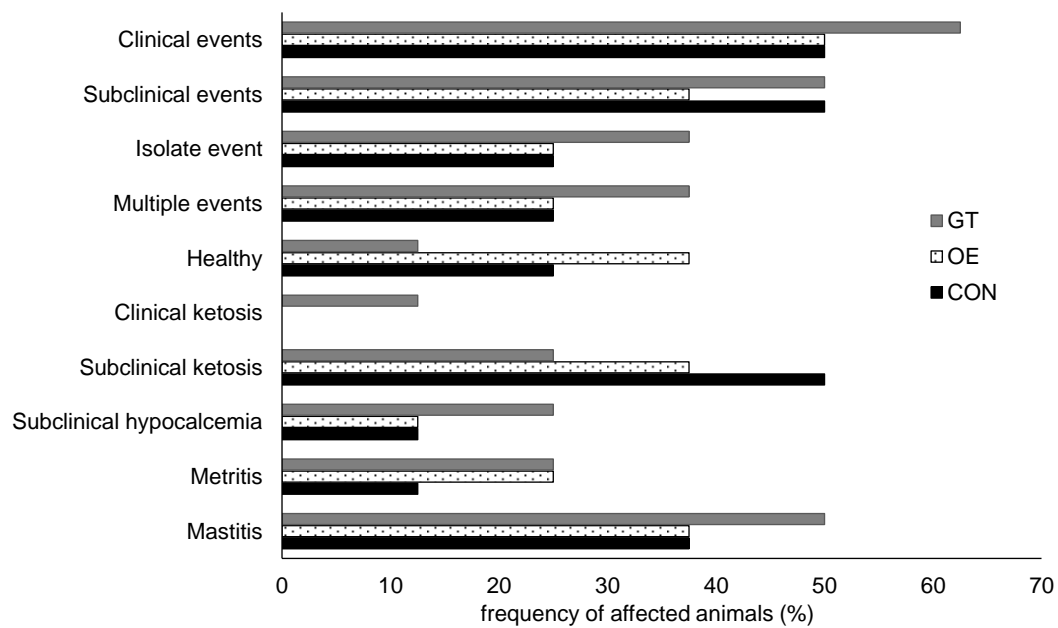
Figure 1 Body condition score (BCS) of Jersey cows fed diets without (CON) or with green tea (GT) and oregano extracts (OE) during the transition period.

Figure 2 Dry matter intake (DMI) of Jersey cows fed diets without (CON) or with green tea (GT) and oregano extracts (OE) during the transition period.

Figure 3 Frequency of Jersey cows affected by metabolic disorders and infectious diseases fed diets without (CON) or with green tea (GT) and oregano extracts (OE) during the transition period.







CAPÍTULO III

Behavior, intake and health in Holstein, Gyr and Gyrolando F1 cows during the transition period previously fed two nutritional plans

Este capítulo é apresentado de acordo com as normas de publicação da **Plos One**.

Behavior, intake and health in Holstein, Gyr and Gyrolando F1 cows during the transition period previously fed two nutritional plans

Sheila Cristina Bosco Stivanin¹, Elissa Forgiarini Vizzotto¹, João Pedro Matiello¹,
Fernanda Samarini Machado², Mariana Magalhães Campos², Thierry Ribeiro Tomich²,
Luiz Gustavo Ribeiro Pereira², Vivian Fischer^{1*}

¹ Department of Animal Science, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

² Brazilian Agricultural Research Corporation – Embrapa Dairy Cattle, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil.

* Corresponding author

E-mail: vivinha.fischer@hotmail.com (VF)

Short title: Nutritional plans in pre calving affect cows of different racial compositions during transition

Abstract

This trial aimed to evaluate the effect of different nutritional plans in pre calving on the dry matter intake (DMI), ingestive behavior and occurrence of infectious diseases and metabolic disorders in Holstein, Gyr and Gyrolando F1 (½ Holstein ½ Gir) cows during the transition period. A completely randomized design, in a factorial arrangement 3x2 (3 racial compositions and two nutritional plans) was used, with measures repeated in time, where 36 nulliparous cows were distributed into two nutritional plans pre calving: 1.69% and 1.89% of BW. DMI was measured daily from day -21 until day +21 in relation

to the day of calving. Ingestive behavior was recorded daily from day -10 until day +21 in relation to day of calving. DMI (% of BW) was higher for Holstein compared to Gyr and Gyrolando F1 in pre and post calving. Gyr and Gyrolando F1 showed worst feed efficiency compared to Holstein. In the pre calving, cows of the 1.89% plan ingested less around calving than 1.69% plan, but nutritional plans did not influence DMI at the beginning of lactation afterwards. Cows of the 1.69% plan remained 25.3 minutes longer in the trough and tend to spend 21.1 minutes more in the trough with feeding activity, during the pre calving, in relation to 1.89% plan. Before calving, Holstein tended to visit the trough with feeding activity less often compared to gyr but, ingested 3.6 and 1.4 times more at each visit in the trough with feeding activity than Gyr and Gyrolando F1, respectively. After calving, Holstein had fewer total visits and visit with feeding activity in the trough but, remained longer at each visit to the trough with feeding and consumed 0.5 and 0.2 kg more per visit compared to Gyr and Gyrolando F1, respectively. Pre calving nutritional plans and racial compositions affect distinctly ingestive behavior and intake with minor effect on health of dairy cows.

Introduction

The transition period includes the last three weeks of pregnancy and the first three weeks of lactation [1] and it is the most challenging phase especially for high yielding dairy cows, [2, 3]. During the transition period, physiological and metabolic changes such as reduction in glucose and insulin levels [4, 5] and an increase in growth hormone concentration with somatotropic axis decoupling [6] occur in order to support pregnancy and ensure the initiation of lactation. All of these changes have direct action on the immune system of the animal and stimulate lipolysis, being the main causes of intake

depression observed before the calving and predisposing the animals to the negative energetic balance and to infections and metabolic disorders [7, 8].

Nutrition programs need to consider the metabolic adaptations experienced by the animal and provide adequate nutrients, minimizing fat deposition, reducing the risk of metabolic diseases related to calving, and promoting a rapid increase in intake after calving [9, 10]. The use of diets providing adequate energy supply to the cows during the dry period is beneficial, since adequate energy intake in the pre calving is positively associated with post calving health and productivity [11, 3].

Different feeding conditions, stress, digestive disturbances and inflammations can modify the normal attributes of the ingestive behavior. Animal behavior has been used as an indicator of their physical and physiological state [12, 13, 8], especially during periods of great challenge such the transition period, and may contribute to the elaboration of management practices that ensure welfare and improvement in productivity.

Most of the literature describes the effect of the use of different feed allowances during pre calving for Holstein cows [9, 11, 3], but information on the results and benefits of these diets are scarce in *Bos indicus* and crossbred animals. The results obtained by Rotta [14] supplying diet at maintenance level (1.15% of BW of DM and 100% of energy needs) and *ad libitum* (190% of energy needs) for crossbreed Holstein x Gir indicate that there is no damage to the fetal development in addition to a lower accumulation of fat in the mammary gland at the end of gestation for cows fed at maintenance level in relation to *ad libitum*. Additionally, Rotta [15] observed that cows fed at the maintenance level had less body fat and had no reduction in DMI during gestation compared to diet fed *ad libitum*. Despite this, of our knowledge there are no studies that show the impact of diets allowances on the ingestive behavior during the pre and post calving as well as their effect on the occurrence of diseases and metabolic disorders in these racial compositions. Our

hypotheses are 1) the control of feed intake during pre calving feeding to meet but not exceed the nutritional requirements stimulates the DMI resumption after calving; 2) the control of feed intake during pre calving reduces the occurrence of diseases and metabolic disturbances at the beginning of lactation; 3) The provision of different nutritional plans during pre calving modifies ingestive behavior at the transition period and 4) changes in DMI, occurrence of diseases and metabolic disturbances and ingestive behavior are distinct for racial compositions. Our study aimed to evaluate the dry matter intake, ingestive behavior and the occurrence of infectious diseases and metabolic disorders of dairy cows of different racial compositions during the transition period fed two nutritional plans during pre calving.

Material and methods

Location Description, Animals and Management

This study was approved by the Ethics Committee for the Use of Farm Animals from the Universidade Federal do Rio Grande do Sul, under protocol number 29838 and the by the Ethics Committee of Embrapa Dairy Cattle, under protocol number 25/2015. This study was performed at the Multi-use Complex on Livestock Bioefficiency and Sustainability of Brazilian Agricultural Research Corporation (Embrapa), located in Coronel Pacheco, Minas Gerais, Brazil between April and December 2016. During the study, the means values of air temperature, relative air humidity and wind speed were respectively $20.9 \pm 0.4^{\circ}\text{C}$ (means \pm SEM), $73.9 \pm 1.3\%$ and 1.4 ± 0.5 km/h and the cumulative rainfall over the entire experimental period was 641.3 mm (Table 1).

Table 1. Mean and amplitude of air temperature (°C), relative air humidity (%), wind speed (km / h) and precipitation (mm / day) during the experimental period.

Thirty six nuliparous cows of three racial compositions (Holstein, Gyr and Gyrolando F1 (½ Holstein x ½ Gyr)) were used during the period from 21 days before calving to 21 days of lactation. Cows were randomly distributed into six groups of 6 animals each according the complete combination of nutritional plans and racial compositions.

Before the study, throughout the gestation period, animals were confined in a Free Stall fitted with electronic feed troughs and head gates (AF-1000 Master Gate, Intergado Ltd., Contagem, MG, Brazil), as well as electronic water troughs (WD-1000, Intergado Ltd., Contagem, Minas Gerais, Brazil). At the beginning of the study, body weight, BCS and age were, respectively, (mean ± SEM) 767.9 ± 53.6 kg, 4.0 ± 0.3 points and 4.2 ± 0.4 years for Holstein, 1.89% plan; 740.9 ± 82.0 kg, 3.9 ± 0.4 points and 4.0 ± 0.0 years for Holstein, 1.69% plan; 578.9 ± 35.7 kg, 4.1 ± 0.2 points and 4.2 ± 0.4 years for Gyr, 1.89% plan; 556.8 ± 39.8 kg, 4.1 ± 0.2 points and 4.0 ± 0.0 years for Gyr, 1.69% plan; 829.1 ± 97.1 kg, 4.6 ± 0.2 points and 4.0 ± 1.1 years for Gyrolando F1, 1.89% plan and 817.3 ± 79.0 kg, 4.4 ± 0.5 points e 4.3 ± 0.5 years for Gyrolando F1, 1.69% plan.

At pre calving, the total mixed diet (TMR) was given once daily (10:00 hs). Diet was formulated considering nutritional requirements for late pregnancy [16], varying only the amount provided 1.69% (to attain maintenance requirements) and 1.89% of the BW (exceeding maintenance requirements). Forage to concentrate ratio was 82 : 18, with forage composed by 54.4% of corn silage and 45.6% of sorghum silage and the concentrate by 64.7% of ground corn grain, 31.3% of soybean meal, 3.2% of mineral blend Lactage Gold® and 0.7% of limestone. The high level of forage in the diet was

chose to meet nutrients density typically found in the grazing systems in the tropics. On the day of calving, cow were drenched with an electrolytic solution containing 30 g of potassium chloride, 255 g of sodium chloride, 15 g of calcium chloride, 300 ml of propylene glycol dissolved in 30 liters of water.

From calving to 21 days of lactation, cows were milked twice a day (7:00 hs and 15:30 hs) in a fishbone milking parlor (2x4) equipped with MM27 electronic somatic cell counters, control unit MPC 580/680 and automatic cluster removal system (DeLaval, Tumba, Sweden) and received TMR after each milking (9:00 hs and 17:00 hs), allowing 5 to 10% of refusals. During this period, the diet was formulated to meet nutritional requirements considering production of 25 kg with 3.6% fat [16] and forage to concentrate ratio of 62 : 38. Forage was corn silage and the concentrate was composed of soybean meal (52.3%), ground corn grain (37.6%), mineral mix Lactage Gold[®] (2.7%), sodium bicarbonate (2.7%), limestone (1.7%), urea (1.6%), ammonium sulfate (1.1%), magnesium oxide (0.9%) and bicalcium phosphate (0.3%). Diet offered and refusals were collected, weighed and sampled daily, at the time of milking in the morning and pooled per week. Samples of ingredients and TMR were analyzed for DM [17] (method INCT-CA n° G-003/1), CP (Kjedahl method), NDF and ADF (method Van Soest), ether extract (Soxhlet method) and gross energy (calorimetric method) [18] (Table 2).

Table 2. Chemical composition of experimental TMR in pre and post calving.

Dry matter intake

The DMI was evaluated continuously throughout the experimental period, using electronic feed troughs and head gates (AF-1000 Master Gate, Intergado Ltd., Contagem, MG, Brazil). Feed efficiency expressed as DMI per kg of milk produced and per kg of

milk produced corrected for energy (ECM) was obtained dividing DMI by milk production and ECM production, respectively. The production of ECM was calculated as $ECM = [(0.3246 \times \text{kg milk}) + (12.86 \times \text{kg fat}) + (7.04 \times \text{kg true protein})]$; true protein calculated as 95 % of the milk crude protein [16] and the fat and protein contents in milk was determined by infrared spectrophotometry [19].

Measurement of performance

Milk production (kg) was recorded every day and were obtained by Alpro software (DeLaval, Tumba, Sweden). Body weight were recorded daily using electronic scales (Intergado, MG, Brazil). BCS was evaluated weekly, being assigned to animals on a scale of 1 to 5 [20].

Ingestive behaviour measurement

The ingestive behavior was evaluated uninterruptedly from 10 days before calving until 21 days of lactation, using electronic feed troughs and head gates (AF-1000 Master Gate, Intergado Ltd., Contagem, MG, Brazil). Feed troughs were attached to radio frequency identification (RFID) antennas that monitored individual feed, as well as feeding behavior [21]. The total time in the trough, the time in the trough with feeding activity, the number and duration of visits in the trough with and without feeding activity; the time for feed intake, the feed intake rate, the amount of feed ingested at each visit in the trough were exported to Intergado® web software. Cows were fitted with an ear tag containing a unique passive transponder (FDX – ISO 11784/11785; Allflex, Joinville, SC, Brazil) in the right ear, and each feed trough was randomly assigned to a single heifer.

Health condition

The occurrence of clinical and subclinical health problems was monitored daily throughout the experimental period. Dystocia was defined as the use of obstetric care at calving [22]. Placental retention was defined as the inability to expel the placenta within 24 hours post calving [23]. Clinical mastitis was characterized by the presence of abnormal milk (clot formation) and visible signs of inflammation such as redness and swelling in one or more udder's quarters. Metritis was assessed by observation of vaginal discharge score [12], and the locomotion score was attribute using the 5 point numerical classification system, where 1 = healthy, 5 = severely lame [24].

Blood samples were obtained from each heifer via coccygea venipunction using 5-ml tubes (DB vacutainer[®] – Minas Gerais, Brazil) without anticoagulant on days -21, -10, -6, -3, 0, 2, 4, 7, 14, 21 with respect to calving, before the morning feed delivery. Further blood samples were centrifuged at 2000 g for 10 minutes and the serum was used for calcium analysis to determine hypocalcemia using commercial kits (Ca Arsenazo Liquiform, method colorimetric, Labtest Diagnóstica). Cases of subclinical and clinical hypocalcaemia were considered when the serum calcium concentration ranged from 5.5 to 8.0 mg / dL and below 5.5 mg / dL, respectively [25]. In the evaluation of the occurrence of ketosis, the venous blood samples were centrifuged at 2000 g for 10 minutes and the serum was used for analysis using commercial kits (RANDOX - D-3-hydroxybutyrate, enzymatic method, Randox Reagents). The thresholds used for the diagnosis of subclinical and clinical ketosis were blood concentrations of β -hydroxybutyrate ≥ 1.2 mM and ≥ 3 mM, respectively [8]. The total number of diseases and metabolic disorders was calculated as well as the period of time elapsed from calving until the diagnosis of the first disease or clinical or subclinical disorder.

Experimental design and statistical analysis

The experimental design was a completely randomized design, in a 3x2 factorial arrangement (3 racial compositions and two nutritional plans during the pre calving period), with measures repeated in time (days), with six treatments and six replicates (animals) in each treatment. Data were analyzed by analysis of variance. Statistical analysis considered racial compositions, nutritional plans, days of evaluation and their interactions as fixed effects, and animal and residue as random effects, using the SAS[®] MIXED procedure, version 9.4. A structural selection test was performed using the Bayesian information criterion (BIC). Covariance structures tested were compound symmetry, first-order autoregressive, toeplitz, and unstructured. Age, BW and BCS recorded at the beginning of the study but previous to treatments' allocation were included in the model as covariates. Means were compared using the *lsmeans* option and the interactions were deployed when significant at 5%. The correlation coefficients between variables were calculated using the CORR procedure. The frequency of occurrence of metabolic disorders and infectious diseases was calculated using the FREQ procedure. The probability of occurrence of metabolic disorders and infectious diseases was calculated using the GLIMMIX procedure. The attributes total time at the trough during the pre and post calving period, time spent at the trough with feeding during pre and post calving periods and the duration of each visit to the trough with feeding activity during pre calving were not normally distributed and were transformed using natural logarithm. The attributes intake rate during pre and post calving periods, intake at each visit to the trough in pre calving period, number of visits to the trough without feeding in the post calving period, duration of each visit to the trough without feeding in the post calving period and feed efficiency were analyzed with non parametric statistics (*Wilcoxon* test).

The significant differences were declared when $P < 0.05$ and a trend considered to exist if $0.05 < P < 0.10$.

Results

The racial compositions x nutritional plans x days and racial compositions x days interactions were not significant for any of the variables ($P > 0.05$). The Holstein and Gyrolando F1 were, on average, 207.0 and 218.7 kg heavier ($P < 0.05$) than the Gyr during pre and post calving, respectively (Table 3). In the pre calving period, BCS tended to be higher for 1.89% plan compared to 1.69% plan, (Table 3). Compared to the Hostein, Gyr and Gyrolando F1 presented higher values ($P < 0.05$) for BCS before and after calving (Table 3; Fig 1). Pre calving nutritional plans and racial compositions did not influence ($P > 0.10$) BW and BCS losses, which averaged 25.7 kg of BW and 0.30 points of BCS after the calving.

Fig 1. Body condition score (BCS) of Holstein (H), Gyr (G) and Gyrolando F1 (GH) during the transition period.

Table 3. Body weight, body condition score (BCS) and their variation in the transition period for cows from different racial compositions fed fed 1.89% or 1.69% of BW during pre calving.

The nutritional plans x days interaction was significant ($P < 0.05$) for DMI (% of BW) before calving. Cows fed 1.69% BW ingested more DM on days -12, -8, -6, -5 and -4 in relation to calving than those receiving 1.89% BW (Fig 2A). Holstein ingested more

DM during pre and post calving when compared to Gyr and Gyrolando F1 ($P < 0.05$; Table 4; Fig 2B). The DMI (% of BW) in the pre calving was positively correlated with DMI (% of BW) in the post calving ($P < 0.05$; $r = 0.29$) and a negative correlation was observed between DMI (% of BW) after calving and BCS after calving ($P < 0.05$; $r = -0.44$).

Fig 2. Dry matter intake (DMI, expressed as % of BW) of dairy cows Holstein (H), Gyr (G) and Gyrolando F1 (GH) fed 1.69 and 1.89% of BW during pre calving according to nutritional plans (A) and racial compositions (B) in the transition period.

During pre calving period, animals fed 1.89 and 1.69% of the BW actually ingested 58.2 and 71.0% of the amount offered, respectively. Cows of the 1.69% nutritional plan remained 25.3 minutes longer in the trough ($P < 0.05$) and tended ($0.05 < P < 0.10$) to spend 21.1 minutes more in the trough with feeding activity, during the pre calving, in relation to those of the 1.89% plan (Table 4). Additionally, Gyrolando F1 cows tended to consume the feed 52.9% faster ($0.05 < P < 0.10$) when compared to Gyr cows (Table 4).

Holstein ingested 0.7 kg of DM less for each kg of milk produced and 0.3 kg of DM less for each kg of ECM produced compared to Gyr and Gyrolando F1 ($P < 0.05$; Table 4). In the post calving, racial compositions x nutritional plans interaction was significant ($P < 0.05$) for the total time in the trough. The total time spend in the trough post calving was lower for Gyr 1.89% plan compared to Gyr 1.69% plan, while Gyrolando F1 1.69% plan spend lower total time in the trough post calving compared to those 1.89% plan (Fig 3).

After calving, feed intake rate was 33.0% lower ($P < 0.05$) for Gyr compared to Holstein and Gyrolando F1 and, the feed intake rate tended to be higher ($0.05 < P < 0.10$) when cows were fed 1.89% plan compared to 1.69% plan (Table 4).

Table 4. Dry matter intake (DMI) and feeding behavior in the transition period of cows from different racial compositions fed 1.89% or 1.69% of BW during pre calving.

Fig 3. Total time spent in the feed trough during post calving according to the nutritional plans (1.69 and 1.89% of BW) and racial compositions.

Before calving, in general, Holstein tended ($0.05 < P < 0.10$) to visit the trough with feeding activity less often compared to Gyr and tended to remain 1.8 minutes more in the each visit in the trough with feeding activity in relation to Gyrolando F1. However, during the pre calving, the Holstein cows ingested 3.6 and 1.4 times more at each visit in the trough with feeding activity than Gyr and Gyrolando F1, respectively ($P < 0.05$, Table 5). Also animals remained 30.4% longer at each visit in the trough without feeding activity when fed 1.69% of the BW compared to 1.89% of the BW (Table 5).

After calving, Holstein had fewer total visits and visit with feeding activity in the trough ($P < 0.05$) besides spent more time in each visit to the trough with feeding activity ($P < 0.05$) compared to Gyr and Gyrolando F1. Also Holstein ingested 0.5 and 0.2 kg more DM at each visit to the trough with feeding activity ($P < 0.05$) compared to Gyr and Gyrolando F1, respectively (Table 5). The number of visits to the trough without feeding activity and the duration of each visit in the trough without feeding activity after calving

were higher ($P < 0.05$) for Gyr cows compared to Holstein and Gyrolando F1, and were higher ($P < 0.05$) for animals 1.69% plan compared to 1.89% plan (Table 5).

Table 5. Behavioral attributes in the transition period of cows from different racial compositions fed 1.89% or 1.69% of BW during pre calving.

The probability of occurrence of metabolic disorders and infectious diseases was similar ($P > 0.10$) for animals fed 1.89 or 1.69% of the BW during pre calving. The probability of dystocia and clinical diseases occurrences was different ($P < 0.05$) between the racial compositions (Table 6). The probability of dystocia occurrence was higher for Holstein, intermediate for Gyrolando F1 and lower for Gyr (Table 6). Holstein cows tended to be more likely to develop clinical events, followed by Gyr cows with intermediate values and Gyrolando F1 presented the lowest values (Table 6). The number of metabolic disorders and diseases and the number of days after calving until the first manifestation of clinical or subclinical symptoms was similar ($P > 0.10$) between nutritional plans and racial compositions and overall averages were 2.7 ± 0.5 disorder or diseases and 2.1 ± 1.3 days post calving, respectively. Additionally, only the Gyrolando F1 group showed animals without diseases and metabolic disorders throughout the transition period, and approximately 73.3% of all animals were affected by more than one disorder or disease, especially dystocia, placenta retention, lameness, mastitis, metritis, clinical and subclinical hypocalcemia or clinical and subclinical ketosis (Table 6).

Table 6. Probability of occurrence of metabolic disorders and infectious diseases according to racial compositions and nutritional plans during the pre calving period.

Discussion

The present study was designed to evaluate the effects of supply of 1.69% (maintenance requirements) or 1.89% (exceeding maintenance requirements) of the BW of diet during the pre calving about transition period of Holstein, Gyr and Gyrolando F1 cows. The use of diets with ingestion control, e.g. feeding to meet without exceeding nutritional requirements during the last 21 days of gestation have been shown to be efficient in reducing the effects of negative energy balance, increasing DMI and improving the immunological status after calving for Holstein dairy cows [9, 4, 11, 26]. This practice also reduced body fat deposition and fat accumulation in the mammary gland and avoided drop in DMI at the end of gestation of crossbred Holstein x Gyr cows [14, 15]. The diet used during pre calving in the present study aimed to simulate cows raising conditions usually observed in grazing systems in the tropical region, with reduction in the supply of concentrate supplement and increase of the fiber, reaching reduced energy density as suggested [10, 4]. In the present study, we highlight positive effects of the nutritional plans used during the pre calving especially about the patterns of visits in the feed trough besides different ingestive behavior and occurrence of metabolic diseases and disorders in the transition period for the racial compositions evaluated, which is the main contribution of our research.

All animals used, regardless of the racial composition or the nutritional plan during the last 21 days of gestation, had high BCS at the beginning of the study [27] and calved with BCS above the recommended threshold, of 3 in a BCS 5-point scale [28, 29] as ideal for Holstein cows of 3.5 points recommended as ideal for zebu and crossbred dairy cows [30] (Fig 1). Avoid excessive BCS is one of the most important factors to promote appetite and high DMI [27, 3]. Thus, it is likely that the excessive BCS at the

beginning of the experimental period was the reason why similar tissue mobilization (loss of BCS) was observed after calving for both nutritional plans. The Holstein cows, which had the lowest BCS, were those that presented greater DMI (% of BW) both before and after calving (Table 4; Fig 2B). The trend of higher BCS before calving for cows fed 1.89% plan it may have been the cause for the trend of lower DMI (% of BW) of animals fed 1.89% plan in some days close to calving (Fig 2A). Our results allied to the fact that BCS and DMI correlated negatively with each other after calving and reinforce the importance of body condition on the appetite of the animals.

Other study [11] evaluated the allowances 150 and 80% of the energy requirements according to the NRC [16] during the last 65 days of gestation and reported that the highest allowance reduced DMI during the last 21 days prior to calving. However, in that study, the animals that received the highest allowance tended to have lower DMI also in the first three weeks of lactation. Reductions in the DMI prior to calving should be avoided as DMI in the pre calving shows a positive correlation with post calving DMI [31, 32]. In general, we also observed a positive correlation between pre and post calving DMI, but the lowest DMI, in the days before calving, presented by cows fed 1.89% BW plan did not affect DMI post calving, which was similar for both nutritional plans (Fig 2A). The DMI (% of BW) of our animals, regardless of nutritional plan and racial composition, was below that calculated to meet the energy requirements for maintenance [16]. Even though nutritional requirements have been calculated based on Holstein animals and, what zebu animals have lower maintenance nutritional requirements [33], we believe that DMI (% of BW) below 1.69% contributed to maintenance in the post calving DMI. The tendency of higher DMI (% of BW) for 1.69% nutritional plan before calving probably was the reason for the tendency of higher total and with feeding activity time

spent in the trough before calving for this nutritional plan compared with cows fed 1.89% plan.

The effect of breeds on voluntary intake is related to the differences between the nutritional requirement for maintenance and the physical capacity of the gastrointestinal tract, being the maintenance requirements associated with the size of the internal organs [34]. Taurine animals, due to greater size and weight of internal organs, have a higher requirement of maintenance and ingestive capacity [33, 35], what justifies the higher DMI in relation to zebu animals. The highest DMI (% of BW) observed for Holstein cows compared to Gyr and Gyrolando F1 resulted in different feeding dynamics, with tendency for lower number of visit in the trough with feeding activity, tendency for longer duration of visit in the trough with feeding activity and, higher feed intake at each visit in the trough during pre calving, as well as, fewer number of visit total and with feeding activity in the trough, longer duration of visit in the trough with feeding activity and, higher feed intake at each visit in the trough during post calving. In ruminants, absorption, mobilization and metabolism patterns affect feed intake, meal size and frequency, due to hepatic oxidation and energy generation [36]. Thus, differences in metabolism and physical capacity of the gastrointestinal tract associated with different DMI (% of BW) among different racial compositions may have contributed to the different feeding dynamics observed.

The different nutrient partitioning between taurine, zebu and crossbred animals [26, 37] suggesting that genetic merit for milk production may be one of the causal factors for the major metabolic differences between breeds in the transition period. The feed conversion values for milk production and ECM production (expressed as kg of MS ingested for kg of milk and ECM produced) present a high standard deviation and coefficient of variation especially for Gyr and Gyrolando F1 cows, but the lower genetic

merit for milk production in zebu animals may justify the worse feed conversion observed as Gyr and Gyrolando F1 cows needed to ingest 0.7 and 0.3 kg more feed per kg of milk and ECM produced, respectively, when compared to Holstein cows.

The differences in metabolism between the different racial compositions may also be the key factor for the different feeding behavioral patterns verified. In addition, the studies developed [38, 39] with beef cattle showed that more efficient animals visited the feed trough less frequently, suggesting that efficiency is another factor that may be related to changes in ingestive behavior. We are not aware of other studies about the feeding dynamics of cows of different racial compositions during the transition and we suggest that more studies should be developed.

The use of different nutritional plans during pre calving had no effect on DMI and post calving efficiency (feed conversion), but it modified some behavioral parameters post calving, especially the total time in the trough for Gyr and Gyrolando F1 animals (Fig 3), besides tendency of reduction of 12.5% in the feed intake rate and an increase of 28.3% and 63.1% in the number and duration of visit in the trough without feed activity post calving, respectively when the 1.69% plan was used, in relation to 1.89% plan. It is possible that the trend of higher DMI (% of BW) observed in the pre calving period for cows fed 1.69% of BW have impacted on their metabolism during the first days of lactation, and made them expressed this distinct behaviors post calving.

The biological responses and benefits of different nutritional plans used during pre calving we might expect on animals' metabolism was impaired by the excessive BCS observed at the end of gestation, but, the present study provides evidence that nutritional plans used during late gestation can modify the way animals distribute their meals and visits to the troughs. It will be important to proceed in investigations, both related to

nutritional plans and how this type of plans impact on DMI, metabolism and behavioral pattern when lower BCS and different breeds and crossbreeds are used.

The metabolic and hormonal changes that occur during the transition period have a direct effect on the animal immune system, and BCS is the main risk factor for the onset of diseases in the transition [10]. Excessive BCS before calving stimulates lipolysis [5] and, affects the functions of the immune cells, compromising the oxidative and phagocytic activity [40] and decreasing the responsiveness of blood lymphocytes [7, 41] predisposing animals to infections and metabolic disorders [42] especially at the beginning of lactation [29]. So, the possible effect of the high BCS on immunological and oxidative activity it may have prevented the expected action of the nutritional plans used during the pre calving period on the occurrence of diseases and disorders after calving. Evaluating taurine breeds, Ribeiro [43] also observed a higher prevalence of diseases for cows of high BCS (>3.25 points). Thus, maintaining BCS at calving is an efficient management practice to minimize health problems. *Bos indicus* usually have greater ease of calving [44], which justifies the lower number of cases of dystocia observed for Gyr. Only 8.3% of the animals remained healthy during the entire transition period, and we do emphasize that they were all Gyrolando F1 which also presented the lowest frequency of clinical diseases, differently from the Holstein cows, which had a higher occurrence of dystocical calvings and clinical cases of diseases. We are aware of the low number of enrolled cows in the study. The genetic merit for milk production and the metabolic and nutrient partitioning differences at the beginning of lactation must have been the reason for the observed difference in health among the racial compositions evaluated.

Conclusion

The nutritional plans of 1.89 or 1.69% of the BW during the last 21 days of gestation does not influence DMI after calving and the occurrence of diseases in the transition period. The 1.69% plan modifies the dynamics of ingestive behavior, increasing the time total and with feeding activity in the trough before calving as well as the number and duration of visits without feeding activity in the trough after calving. Dry matter intake, ingestive behavior and the occurrence of diseases are different among Taurine, Zebuine and Crossbreed animals.

Acknowledgment

The authors thank to Brazilian National Research Council - CNPq 473562 / 2012-0 for the research and fellow research grants, to the Brazilian Agricultural Research Corporation - EMBRAPA Dairy cattle center for providing the animals, structure and employees for the experiment and to CAPES for fellow research grants.

Referências

1. Drackley JK. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier?. *J. Dairy Sci.* 1999; 82: 2259-2273.
2. Trevisi E, Amadori M, Cogrossi S, Razzuoli E, Bertoni G. Metabolic stress and inflammatory response in high-yielding, periparturient dairy cows. *Res. Vet. Sci.* 2012; 93: 695-704.
3. Dracley JK, Cardoso FC. Prepartum and postpartum nutritional management to optimize fertility in high-yielding dairy cows in confined TMR systems. *Animal.* 2014; 8: 5-14.

4. Dann HM, Litherland NB, Underwood JP, Bionaz M, D'angelo A, McFadden JW, et al. Diets during far-off and close-up dry periods affect periparturient metabolism and lactation in multiparous cows. *J. Dairy Sci.* 2006; 89: 3563-3577.
5. Sordillo LM, Raphael W. Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2013; 29: 267-278.
6. Lucy MC, Verkerk GA, Whyte BE, Macdonald KA, Burton L, Cursons RT, et al. Somatotrophic axis components and nutrient partitioning in genetically diverse dairy cows managed under different feed allowances in a pasture system. *J. Dairy Sci.* 2009; 92: 526-539.
7. Nonnecke BJ, Kimura K, Goff JP, Kehrli ME. Effects of the mammary gland on functional capacities of blood mononuclear leukocyte populations from periparturient cows. *J. Dairy Sci.* 2003; 86: 2359-2368.
8. Garro CJ, Mian L, Cobos Roldán M. Subclinical ketosis in dairy cows: prevalence and risk factors in grazing production system. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 2014; 98: 838-844.
9. Douglas GN, Overton TR, Bateman HG, Dann HM, Drackley JK. Prepartal plane of nutrition, regardless of dietary energy source, affects periparturient metabolism and dry matter intake in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 2006; 89: 2141-2157.
10. Butler M, Patton J, Murphy JJ, Mulligan FJ. Evaluation of a high-fibre total mixed ration as a dry cow feeding strategy for spring-calving Holstein Friesian dairy cows. *Livest. Sci.* 2011; 136: 85-92.
11. Janovick NA, Drackley JK. Prepartum dietary management of energy intake affects postpartum intake and lactation performance by primiparous and multiparous Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 2010; 93: 3086-102.

12. Huzzey JM, Veira DM, Weary DM, Von Keyserlingk MAG. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. *J. Dairy Sci.* 2007; 90: 3220-3233.
13. Komatsu T, Higashiyama Y, Fukasawa M, Katoh K, Oshibe A. Physiological changes during feeding and rumination in cows. *Anim. Sci. J.* 2014; 85: 271-276.
14. Rotta PP, Valadares Filho SC, Gionbelli TRS, Silva LC, Engle TE, Marcondes MI, et al. Effects of day of gestation and feeding regimen in Holstein× Gyr cows: II. Maternal and fetal visceral organ mass. *J. Dairy Sci.* 2015; 985: 3211-3223.
15. Rotta PP, Valadares Filho SC, Gionbelli TRS, Silva LC, Engle TE, Marcondes MI, et al. Effects of day of gestation and feeding regimen in Holstein× Gyr cows: I. Apparent total-tract digestibility, nitrogen balance, and fat deposition. *J. Dairy Sci.* 2015; 985: 3197-3210.
16. National Research Council (NRC). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th rev. ed. Washington: National Academy Press; 2001.
17. Detmann E, Souza MA, Valadares Filho SC, Queiroz AC, Berchielli TT, Saliba EOS, Cabral LS, Pina DS, Ladeira MM and Azevêdo JAG. *Métodos para análise de alimentos*. 1th ed. Visconde do Rio Branco: Suprema; 2012.
18. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). *Official methods of analysis*. 18th ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists; 2011.
19. Fonseca LFL, Santos MV. *Qualidade do leite e controle da mastite*. São Paulo: Lemos Editorial; 2000.
20. Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1989; 72: 68-78.
21. Chizzotti ML, Machado FS, Valente EEL, Pereira LGR, Campos MM, Tomich TR, Coelho SG, Ribas MN. Technical note: Validation of a system for monitoring

- individual feeding behavior and individual feed intake in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2015; 98: 3438-3442.
22. Johanson JM, Berger PJ. Birth weight as a predictor of calving ease and perinatal mortality in Holstein cattle. *J. Dairy Sci.* 2003; 86: 3745-55.
 23. Sandals WCD, Curtis RA, Cote JF, Martin SW. The effect of retained placenta and metritis complex on reproductive performance in dairy cattle—a case control study. *Can. Vet. J.* 1979; 20: 131.
 24. Flower FC, Weary DM. Effect of hoof pathologies on subjective assessments of dairy cow gait. *J. Dairy Sci.* 2006; 89: 139–146.
 25. Goff JP. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Vet. J.* 2008; 176: 50–57.
 26. Graugnard DE, Bionaz M, Trevisi E, Moyes KM, Salak-Johnson JL, Wallace RL, et al. Blood immunometabolic indices and polymorphonuclear neutrophil function in peripartum dairy cows are altered by level of dietary energy prepartum. *J. Dairy Sci.* 2012; 95: 1749-1758.
 27. Cardoso FC, LeBlanc SJ, Murphy MR, Drackley JK. Prepartum nutritional strategy affects reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2013; 96: 5859-5871.
 28. Roche JR, Friggens NC, Kay JK, Fisher MW, Stafford KJ, Berry DP. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *J. Dairy Sci.* 2009; 92: 5769-5801.
 29. Akbar H, Grala TM, Riboni MV, Cardoso FC, Verkerk G, McGowan J, et al. Body condition score at calving affects systemic and hepatic transcriptome indicators of inflammation and nutrient metabolism in grazing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2015; 98: 1019-1032.

30. Lopes BC, Ferreira MBD, Oliveira AP, Cembranelli MAR. Escore da condição corporal: ferramenta para o manejo reprodutivo de fêmeas leiteiras. *Inf. Agropecuário (Belo Horizonte)*. 2015; 36: 88-99.
31. Grummer RR, Rastani RR. Why reevaluate dry period length?. *J. Dairy Sci.* 2004; 87: 77-85.
32. Drackley JK, Dann HM, Douglas N, Guretzky NAJ, Litherland NB, Underwood JP, et al. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. *Ital. J. Anim. Sci.* 2005; 4: 323-344.
33. Cardenas-Medina JV, Ku-Vera JC, Magana-Monforte JG. Estimation of metabolizable energy requirements for maintenance and energetic efficiency of weight gain in *Bos taurus* and *Bos indicus* cows in tropical Mexico. *J. Anim. Vet. Adv.* 2010; 9: 421-428.
34. Ketelaars JJMH, Tolkamp BJ. Toward a new theory of feed intake regulation in ruminants 1. Causes of differences in voluntary feed intake: critique of current views. *Livest. Prod. Sci.* 1992; 30: 269-296.
35. Valadares Filho SDC, Marcondes MI, Chizzotti ML, Paulino PVR. Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzados BR-CORTE. 2th ed. Viçosa: Suprema Gráfica Ltda; 2010.
36. Allen MS, Bradford BJ, Oba M. Board-Invited Review: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. *J. Anim. Sci.* 2009; 87: 3317-3334.
37. Borges ALCC, Texeira RMA, Silva EA, Fernandes L, Ruas JRM, Queiroz DS, et al. Desempenho nutricional de bovinos leiteiros. *Inf. Agropecuário (Belo Horizonte)*. 2015; 36: 88-99.

38. Golden JW, Kerley MS, Kolath WH. The relationship of feeding behavior to residual feed intake in crossbred Angus steers fed traditional and no-roughage diets. *J. Anim. Sci.* 2008; 86: 180.
39. Nkrumah JD, Crews DH, Basarab JA, Price MA, Okine EK, Wang Z, et al. Genetic and phenotypic relationships of feeding behavior and temperament with performance, feed efficiency, ultrasound, and carcass merit of beef cattle. *J. Anim. Sci.* 2007; 85: 2382-2390.
40. Hoeben D, Monfardini E, Opsomer G, Burvenich C, Dosogne H, De Kruif A, et al. Chemiluminescence of bovine polymorphonuclear leucocytes during the periparturient period and relation with metabolic markers and bovine pregnancy-associated glycoprotein. *J. Dairy Res.* 2000; 67: 249-259.
41. Lacetera N, Scalia D, Bernabucci U, Ronchi B, Pirazzi D, Nardone A. Lymphocyte functions in overconditioned cows around parturition. *J. Dairy Sci.* 2005; 88: 2010-2016.
42. Ster C, Loisel MC, Lacasse P. Effect of postcalving serum nonesterified fatty acids concentration on the functionality of bovine immune cells. *J. Dairy Sci.* 2012; 95: 708-717.
43. Ribeiro ES, Lima FS, Greco LF, Bisinotto RS, Monteiro APA, Favoreto M, et al. Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates. *J. Dairy Sci.* 2013; 96: 5682-5697.
44. Da Costa MJRP, Sant'Anna AC, Silva LCM. Temperamento de bovinos Gir e Girolando: efeitos genéticos e de manejo. *Inf. Agropecuário (Belo Horizonte)*. 2015; 36: 100-107.

Table 1. Mean and amplitude of air temperature (°C), relative air humidity (%), wind speed (km / h) and precipitation (mm / day) during the experimental period.

Month	Temperature		Humidity		Wind speed		Precipitation
	Mean	Amplitude	Mean	Amplitude	Mean	Amplitude	
April	22.8	33.7 – 14.2	80.8	100.0 – 28.0	1.3	4.3 – 0.2	41.2
May	19.9	31.7 – 9.2	84.1	100.0 – 33.0	1.2	6.8 – 0.2	16.4
June	17.3	31.0 – 6.5	86.6	100.0 – 29.0	1.1	6.3 – 0.1	29.0
July	18.0	33.6 – 8.2	77.2	100.0 – 18.0	1.2	6.7 – 0.1	6.6
August	19.3	34.6 – 8.3	64.6	100.0 – 19.0	1.5	7.1 – 0.2	16.8
September	21.4	35.9 – 9.1	64.5	100.0 – 26.0	1.6	6.3 – 0.2	48.2
October	22.5	37.1 – 11.8	68.3	100.0 – 25.0	1.6	5.3 – 0.2	53.0
November	22.7	34.7 – 10.4	70.4	100.0 – 27.0	1.5	5.6 – 0.1	180.2
December	23.9	36.7 – 16.4	69.8	100.0 – 27.0	1.4	7.7 – 0.2	150.2

Table 2. Chemical composition of experimental TMR in pre and post calving.

Item	TMR allowance at pre calving ¹		TMR allowance at Post calving ¹	
	1.89%	1.69%	1.89%	1.69%
	Ingredients (kg/100 kg)			
Corn silage	44.6	44.6	62.0	62.0
Sorghum silage	37.4	37.4	-	-
Ground corn grain	11.6	11.6	14.2	14.2
Soybean meal	5.6	5.6	19.8	19.8
Mineral Blend	0.6	0.6	1.0	1.0
Limestone	0.1	0.1	0.6	0.6
Sodium bicarbonate	-	-	1.0	1.0
Urea	-	-	0.6	0.6
Ammonium sulfate	-	-	0.4	0.4
Magnesium oxide	-	-	0.3	0.3
Bicalcium phosphate	-	-	0.1	0.1
Chemical composition (g/100 g of diet DM)				
Gross energy (Mcal / kg)	4.4		4.4	
Ether extract (%)	3.5		3.3	
Crude protein (%)	13.5		16.5	
Neutral detergent fiber (%)	46.8		32.4	
Acid detergent fiber (%)	28.3		18.2	

¹Nutritional plans: 1.89% = supply of 1.89% BW totally mixed diet; 1.69% = supply of 1.69% BW totally mixed diet

Table 3. Body weight, body condition score (BCS) and their variation in the transition period for cows from different racial compositions fed fed 1.89% or 1.69% of BW during pre calving.

Variable	Racial Compositions ¹			Nutritional Plans ²		SEM	P – values				
	H	G	GH	1.89%	1.69%		R	N	Day	R*N	N*D
Body weight (kg)											
Pre calving	775.9a	578.4b	795.0a	722.9	710.0	19.6	<0.01	0.55	<0.01	0.97	0.99
Post calving	656.7a	467.2b	715.2a	620.4	605.6	18.4	<0.01	0.49	0.64	0.85	0.88
Post calving loss	-23.5	-28.4	-25.4	-24.5	-26.7	14.2	0.93	0.84	-	-	-
BCS											
Pre calving	4.0b	4.3a	4.3a	4.2	4.1	0.1	0.01	0.08	0.06	0.33	0.83
Post calving	3.5b	3.9a	4.0a	3.8	3.8	0.1	<0.01	0.57	<0.01	0.48	0.25
Post calving loss	-0.3	-0.3	-0.3	-0.2	-0.3	0.1	0.26	0.24	-	-	-

¹Racial Compositions: H = Holstein; G = Gyr; GH = Gyrolando F1 (½ Holstein x ½ Gyr);

²Nutritional Plans: 1.89% = TMR supply equivalent to 1.89% of BW; 1.69% = TMR supply equivalent to 1.69% BW;

R = Racial compositions, N = Nutritional plans, D = day; SEM = Standard error of the mean.

Table 4. Dry matter intake (DMI) and feeding behavior in the transition period of cows from different racial compositions fed 1.89% or 1.69% of BW during pre calving.

Variable	Racial Compositions ¹			Nutritional Plans ²		SEM	P – values				
	H	G	GH	1.89%	1.69%		R	N	Day	R*N	N*D
Pre Calving											
DMI (kg)	10.3a	6.3c	8.9b	8.2	8.9	0.5	<0.01	0.10	<0.01	0.22	0.02
DMI (% of BW)	1.4a	1.1b	1.1b	1.1	1.2	0.06	<0.01	0.08	<0.01	0.44	<0.01
Time in the trough (min)	84.3	78.6	58.6	61.2	86.5	12.7	0.44	0.04	0.21	0.08	0.70
Time in the trough with feeding activity (min)	74.5	76.3	52.8	57.3	78.4	9.6	0.46	0.07	0.30	0.08	0.79
Feed intake rate (kg DMI / min)	0.13ab	0.08b	0.17a	0.12	0.15	0.2	0.06	0.24	0.87	-	-
Post Calving											
DMI (kg)	13.2a	4.3b	11.8a	10.1	9.3	0.9	<0.01	0.41	<0.01	0.29	0.70
DMI (% of BW)	2.0a	1.3b	1.5b	1.6	1.6	0.2	0.02	0.88	<0.01	0.64	0.61
Milk production (kg)	17.9a	4.2b	12.4ab	11.3	11.7	2.1	<0.01	0.86	<0.01	0.95	0.56
ECM production (kg)	19.6a	8.8b	17.7a	16.1	14.6	1.9	0.05	0.45	<0.01	0.01	0.93

DMI per kg of milk (kg/kg)	0.8b	1.7a	1.4a	1.2	1.3	1.2	<0.01	0.20	0.88	-	-
DMI per kg of ECM (kg/kg)	0.7b	1.0a	1.1a	1.0	0.9	0.3	<0.01	0.22	0.45	-	-
Time in the trough (min)	84.7	72.6	72.6	75.1	78.2	10.5	0.68	0.75	<0.01	0.01	0.80
Time in the trough with feeding activity (min)	82.2	62.5	66.3	70.7	70.0	10.1	0.43	0.94	<0.01	0.06	0.86
Feed intake rate (kg DMI/min)	0.15a	0.12b	0.17a	0.16	0.14	0.02	<0.01	0.05	0.84	-	-

¹Racial Compositions: H = Holstein; G = Gyr; GH = Gyrolando F1 (½ Holstein x ½ Gyr);

²Nutritional Plans: 1.89% = TMR supply equivalent to 1.89% of BW; 1.69% = TMR supply equivalent to 1.69% BW;

R = Racial compositions, N = Nutritional plans, D = day;

SEM = Standard error of the mean;

ECM = energy corrected milk.

Table 5. Behavioral attributes in the transition period of cows from different racial compositions fed 1.89% or 1.69% of BW during pre calving.

Variable	Racial Compositions ¹			Nutritional Plans ²		SEM	P – values				
	H	G	GH	1.89%	1.69%		R	N	Day	R*N	N*D
Pre Calving											
Visits in the trough (n°)	52.8	78.2	65.5	62.4	68.6	10.9	0.48	0.55	<0.01	0.11	0.48
Visits in the trough with feeding activity (n°)	28.7b	55.7a	40.5ab	39.0	44.3	5.9	0.07	0.35	<0.01	0.07	0.37
Duration of visit in the trough with feeding activity (min)	3.1a	2.1ab	1.3b	1.8	2.5	0.5	0.05	0.98	0.71	0.47	0.74
Feed ingested at each visit in the trough (kg)	0.36a	0.10c	0.25b	0.22	0.25	0.04	<0.01	0.11	0.76	-	-
Visits in the trough without feeding activity (n°)	25.5	21.2	25.6	23.3	24.9	7.3	0.96	0.82	<0.01	0.21	0.35
Duration of visit in the trough without feeding activity (min)	0.22	0.20	0.16	0.16	0.23	0.03	0.63	0.04	0.22	0.48	0.33
Post Calving											
Visits in the trough (n°)	35.0b	101.0a	79.9a	71.9	72.1	12.6	0.01	0.98	<0.01	0.08	0.46

Visits in the trough with feeding activity (n°)	25.1b	50.3a	49.2a	46.2	36.9	6.1	0.01	0.10	<0.01	0.74	0.28
Duration of visit in the trough with feeding activity (min)	4.7a	0.9b	2.1b	2.4	2.7	0.5	<0.01	0.50	0.01	0.94	0.67
Feed ingested at each visit in the trough (kg)	0.6a	0.1c	0.4b	0.3	0.4	0.06	<0.01	0.28	0.26	0.44	0.61
Visits in the trough without feeding activity (n°)	9.5c	52.7a	29.7b	25.6	35.7	10.2	<0.01	<0.01	0.42	-	-
Duration of visit in the trough without feeding activity (min)	0.25b	0.36a	0.13c	0.14	0.38	0.08	<0.01	<0.01	0.84	-	-

¹Racial Compositions: H =Holstein; G = Gyr; GH = Gyrolando F1 (½ Holstein x ½ Gyr);

²Nutritional Plans: 1.89% = TMR supply equivalent to 1.89% of BW; 1.69% = TMR supply equivalent to 1.69% BW;

R = Racial compositions, N = Nutritional plans, D = day;

SEM = Standard error of the mean.

Table 6. Probability of occurrence of metabolic disorders and infectious diseases according to racial compositions and nutritional plans during the pre calving period.

Occurrence of health problems	Racial Compositions ¹			Nutritional Plans ²		SEM	P – values	
	H	G	GH	1.89%	1.69%		R	N
Dystocia (%)	66.7a	10.0b	25.0ab	41.2	29.4	0.8	0.04	0.48
Retained placenta (%)	33.3	40.0	0.0	29.4	17.6	0.6	0.95	0.43
Lameness (%)	50.0	0.0	0.0	5.9	29.4	0.6	0.99	0.11
Metritis (%)	25.0	10.0	0.0	11.8	11.8	0.8	0.68	0.99
Mastitis (%)	8.3	20.0	8.3	17.6	5.9	0.9	0.65	0.32
Clinical hypocalcemia (%)	16.7	10.0	0.0	5.9	11.8	0.9	0.90	0.56
Subclinical hypocalcemia (%)	75.0	60.0	91.7	70.6	82.3	0.8	0.28	0.43
Clinical Ketosis (%)	8.3	20.0	0.0	11.8	5.9	0.9	0.74	0.56
Subclinical ketosis (%)	66.7	80.0	50.0	64.7	64.7	0.7	0.36	0.99
Healthy (%)	0.0	0.0	8.3	5.9	0.0	1.0	0.99	0.97
Clinical events (%)	83.3a	70.0ab	33.3b	64.7	58.8	0.7	0.06	0.73
Multiple events (%)	83.3	70.0	66.7	64.7	82.3	0.7	0.64	0.26

¹Racial Compositions: H = Holstein; G = Gyr; GH = Gyrolando F1 (½ Holstein x ½ Gyr);

²Nutritional Plans: 1.89% = TMR supply equivalent to 1.89% of BW; 1.69% = TMR supply equivalent to 1.69% BW;

R = Racial compositions, N = Nutritional plans;

SEM = Standart error of the mean.

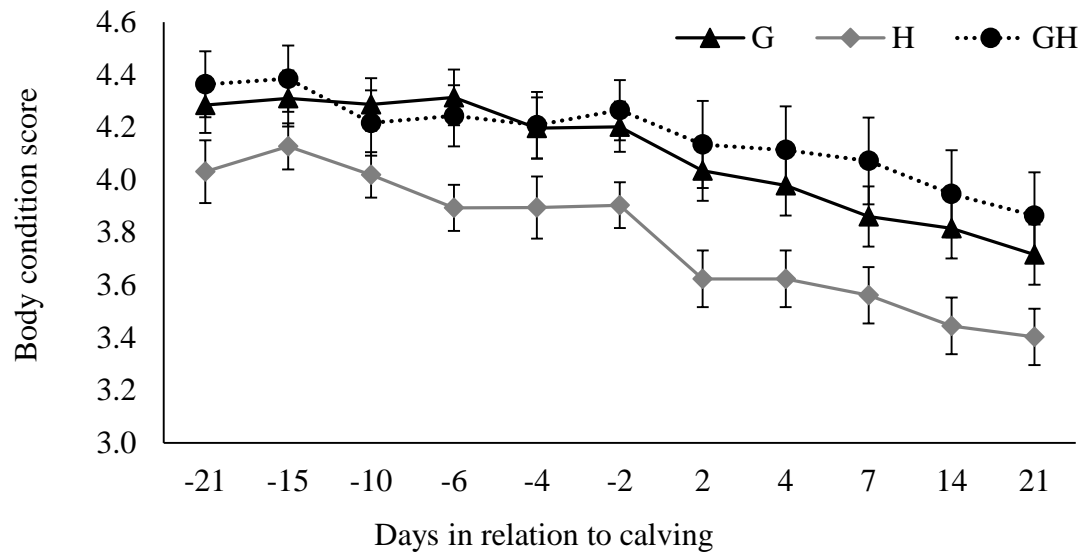
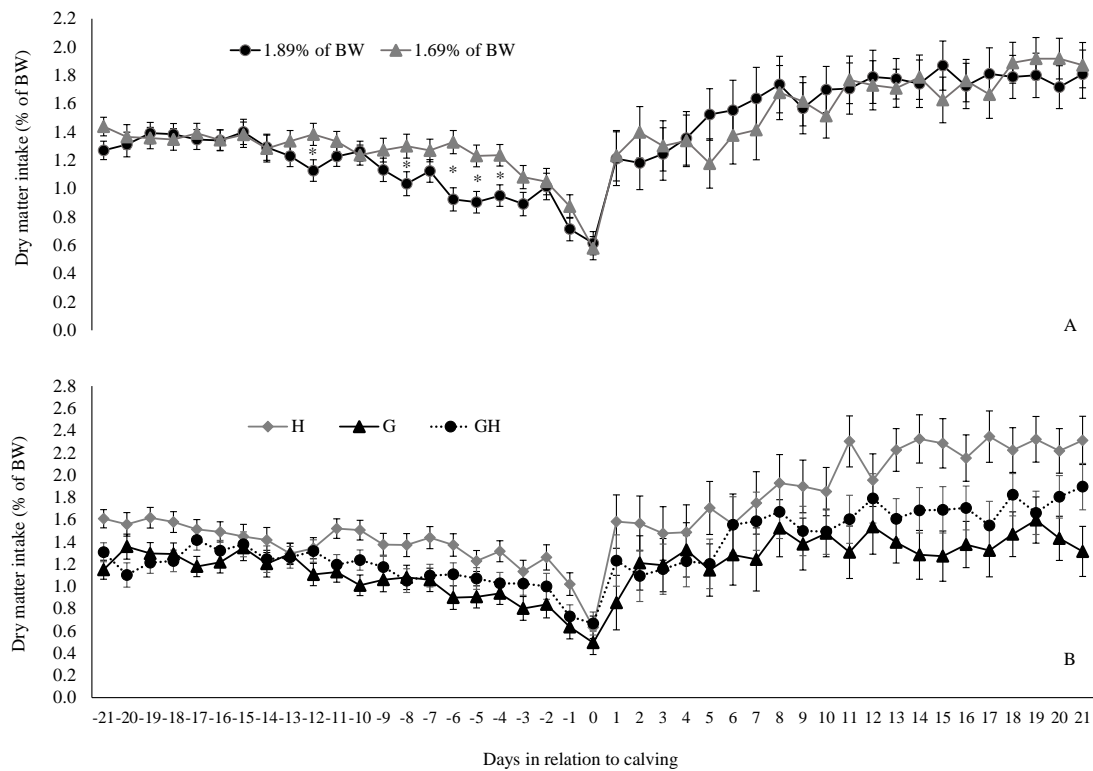
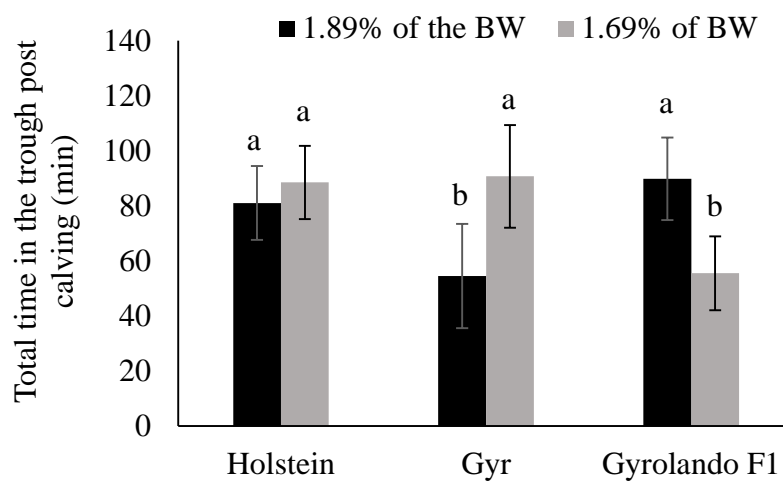


Fig 1. Body condition score (BCS) of Holstein (H), Gyr (G) and Gyrolando F1 (GH) during the transition period.



* Indicates the days where the nutritional plans were different

Fig 2. Dry matter intake (DMI, % of BW) of dairy cows Holstein (H), Gyr (G) and Gyrolando F1 (GH) fed 1.69 and 1.89% of BW during pre calving according to nutritional plans (A) and racial compositions (B) in the transition period.



Different letters indicate differences between nutritional plan within each racial composition

Fig 3. Total time spent in the feed trough during post calving according to the nutritional plans (1.69 and 1.89% of BW) and racial compositions.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A contribuição do presente estudo foi 1) avaliar o efeito do fornecimento de extratos de chá verde e de orégano sobre o consumo de matéria seca, o comportamento alimentar e social e a ocorrência de doenças e distúrbios metabólicos em vacas leiteiras da raça Jersey durante o período de transição e 2) avaliar o efeito do fornecimento de alimento equivalente a 1,69 ou 1,89% do peso corporal durante o pré parto sobre o consumo de matéria seca, o comportamento ingestivo e a ocorrência de doenças e distúrbios metabólicos em vacas Holandesas, Gir e Girolandas F1 durante o período de transição.

No primeiro estudo, de maneira geral, pode-se observar que as vacas que receberam extrato de orégano na dieta consumiram mais MS após o parto, o que é uma resposta animadora tendo-se em vista a importância de estimular o consumo de vacas leiteiras nas primeiras semanas após o parto. A maior efetividade do extrato de orégano como antibacteriano, especialmente sobre as bactérias gram-positivas (produtoras de metano), em comparação a outros metabólitos secundários de plantas pode ter permitido a ele mais efetividade em melhorar a eficiência de produção de leite (kg de MS consumida para cada kg de leite corrigido para energia produzido) em relação ao extrato de chá verde. Com relação ao comportamento ingestivo, o extrato de orégano novamente se destaca em relação ao chá verde, com as vacas que consumiram orégano gastando menos tempo para ingerir o concentrado e conseqüentemente tendo uma maior taxa de consumo do concentrado resultado esse que possivelmente foi reflexo da presença compostos aromáticos tais como taninos e alcaloides no chá verde prejudicando sua palatabilidade. A capacidade de modular os receptores de dopamina e serotonina GABA-A e 5-HT dos extratos de chá verde e orégano, respectivamente, estimula comportamento de locomoção e exploração do ambiente (GABA-A) e também o aumento da imobilidade (5-HT) o que provavelmente explica as diferenças observadas nesse primeiro estudo nos comportamentos sociais como os eventos de lambar o cocho, agressão e interação entre animais. A hipótese de que o consumo dos extratos de plantas melhoraria o estado de saúde dos animais não foi confirmada com apenas 25% das vacas permanecendo saudáveis durante o período experimental. Talvez, pelo período de transição se tratar de uma fase bastante desafiadora à saúde dos animais, doses mais altas poderiam ter sido mais eficientes no estímulo ao sistema imunológico e antioxidante.

No segundo estudo, as vacas nulíparas estavam com ECC acima dos 3 pontos recomendado para raças taurinas e dos 3,5 pontos recomendados para raças zebuínas e cruzas. Essa situação fez com que os animais iniciassem mobilização de tecido corporal (perda de ECC) antes mesmo do parto e apresentassem mobilização tecidual semelhante após o parto. O ECC é um dos fatores mais importantes para promover o apetite e alto consumo de matéria seca após o parto. De fato, as vacas Holandesas, as quais apresentaram mais baixo ECC consumiram mais MS em relação às demais tanto antes quanto após o parto e, as vacas que receberam o plano nutricional de 1,69% do PC, as quais também apresentaram mais baixo ECC consumiram mais MS antes do parto em

relação às do plano 1,89%. Reduções no CMS antes do parto tais como a observada quando as vacas receberam 1,89% do PC de alimento devem ser evitadas, uma vez que o CMS no pré e no pós parto mostram correlação positiva entre si podendo prejudicar a retomada do CMS após o parto. Felizmente, o menor CMS observado alguns dias próximos ao parto para as vacas que receberam 1,89% do PC não prejudicou o CMS após o parto. As vacas Gir e Girolando F1 apresentaram menor eficiência de produção (kg de MS consumida para cada kg de leite corrigido para energia produzido) em relação às Holandesas. O maior CMS observado para as vacas Holandesas em relação às demais, resultou em diferente dinâmica de alimentação, com maior duração de cada visita com alimentação ao cocho após o parto e, maior consumo em cada visita ao cocho tanto antes quanto após o parto. Além disso, as diferenças no metabolismo entre as diferentes composições raciais podem ser o fator chave para os diferentes padrões comportamentais verificados. As respostas e os benefícios dos planos nutricionais oferecidos no pré parto foram prejudicadas pelo excessivo ECC das vacas ao parto, mas esse estudo evidencia que os planos nutricionais usados no final da gestação podem modificar a forma com que os animais distribuem as suas refeições e visitas ao cocho. A hipótese de que a oferta de alimento baixa no pré parto reduziria a ocorrência de doenças não foi confirmada, e o excessivo ECC provavelmente foi a causa da alta incidência de doenças e distúrbios metabólicos observada, com apenas 8,3% dos animais permanecendo saudáveis ao longo do estudo.

REFERÊNCIAS

- ABCBRH. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CRIADORES DE BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA. **A raça**: no Brasil. Disponível em: <<http://gadoholandes.com.br/a-raca/no-brasil/>>. Acesso em: 30 jan. 2018.
- ABCG. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE GIROLANDO. **Performance**. Disponível em: <<http://girolando.com.br/index.php?paginasSite/girolando,3,pt>>. Acesso em: 03 abr. 2018.
- ABCG. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE GIROLANDO. **Generalidades**. Disponível em: <<http://girolando.com.br/index.php?paginasSite/girolando,2,pt>>. Acesso em: 03 abr. 2018.
- ABCGIL. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE GIR LEITEIRO. **A raça**. Disponível em: <<http://girleiteiro.org.br/?conteudo,151>>. Acesso em: 30 jan. 2018.
- ABRAHAMSE, S. L.; KLOOTS, W. J.; VAN AMELSVOORT, J. M. Absorption, distribution, and secretion of epicatechin and quercetin in the rat. **Nutrition Research**, New York, v. 25, n. 3, p. 305-317, 2005.
- ADIN, G. et al. Effect of feeding cows in early lactation with diets differing in roughage neutral detergent fiber content on intake behavior, rumination, and milk production. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 7, p. 3364–3373, 2009.
- AKBAR, H. et al. Body condition score at calving affects systemic and hepatic transcriptome indicators of inflammation and nutrient metabolism in grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 98, n. 2, p. 1019-1032, 2015.
- ALLEN, J. D. et al. Effect of core body temperature, time of day, and climate conditions on behavioral patterns of lactating dairy cows experiencing mild to moderate heat stress. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 98, n. 1, p. 118-127, 2015.
- ALLEN, M. S.; BRADFORD, B. J.; OBA, M. Board-Invited Review: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, n. 10, p. 3317-3334, 2009.
- ALMEIDA, P. E. et al. Depressed DHEA and increased sickness response behaviors in lame dairy cows with inflammatory foot lesions. **Domestic Animal Endocrinology**, Auburn, v. 34, n. 1, p. 89-99, 2008.
- AZEVEDO, M. et al. Estimativas de níveis críticos para vacas leiteiras 1/2, 3/4 e 7/8 Holandês-Zebu em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 6, p. 2000-2008, 2005.

- AZIZI, O. **Relationships between feeding behaviour and feed intake in dairy cows during early lactation**. 159 p. 2008. PhD (Thesis) - Humboldt-University Berlin, Germany, 2008.
- BAR, D.; SOLOMON, R. Rumination collars: what can they tell us. In: FIRST NORTH AMERICAN CONFERENCE ON PRECISION DAIRY MANAGEMENT, 2010, Minnesota. **Proceedings...** Minnesota: Conference on precision dairy management, 2010. p. 2-5.
- BASILICO, M. Z.; BASILICO, J. C. Inhibitory effects of some spice essential oils on *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 growth and ochratoxin a production. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 29, n. 4, p. 238-241, 1999.
- BAUMAN, D. E. Regulation of nutrient partitioning during lactation: homeostasis and homeorhesis revisited. In: CRONJÉ, P. B. **Ruminant physiology: digestion, metabolism, growth and reproduction**. London: British Library, 2000. p. 311-328.
- BAUMAN, D. E.; CURRIE, W. B. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63, n. 9, p. 1514-1529, 1980.
- BENCHAAR, C. et al. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 145, n. 1-4, p. 209-228, 2008.
- BENCHAAR, C.; GREATHEAD, H. Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 166-167, p. 338-355, 2011.
- BERMAN, A. Invited review: Are adaptations present to support dairy cattle productivity in warm climates? **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, n. 5, p. 2147-2158, 2011.
- BERNABUCCI, U. et al. Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, n. 6, p. 2017-2026, 2005.
- BITEW, M.; PREASED, S. Study on major reproductive health problems in indigenous and cross breed cow in and around Bedell, South west Ethiopia. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad, v. 10, n. 6, p. 723-727, 2011.
- BOBE, G.; YOUNG, J. W.; BEITZ, D. C. Invited review: pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 10, p. 3105-3124, 2004.
- BOND, G. B. et al. Métodos de diagnóstico e pontos críticos de bem-estar de bovinos leiteiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 7, p. 1286-1293, 2012.
- BORGES, A. L. C. C. et al. Desempenho nutricional de bovinos leiteiros. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 36, p. 88-99, 2015.

- BRADFORD, B. J. et al. Invited review: Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 98, n. 10, p. 6631-6650, 2015.
- BRISTOW, D. J.; HOLMES, D. S. Cortisol levels and anxiety-related behaviors in cattle. **Physiology and Behavior**, New York, v. 90, n. 4, p. 626–628, 2007.
- BROOM, D. M. Indicators of poor welfare. **British Veterinary Journal**, London, v. 142, n. 6, p. 524-526, 1986.
- BROUDISCOU, L. P.; CORNU, A.; ROUZEAU, A. In vitro degradation of 10 mono-and sesquiterpenes of plant origin by caprine rumen micro-organisms. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 87, n. 9, p. 1653-1658, 2007.
- BROUDISCOU, L. P.; PAPON, Y.; BROUDISCOU, A. F. Effects of dry plant extracts on fermentation and methanogenesis in continuous culture of rumen microbes. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 87, n. 3-4, p. 263-277, 2000.
- BUCKLEY, F. et al. Relationships among milk yield, body condition, cow weight, and reproduction in spring-calved holstein-friesians. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 7, p. 2308-2319, 2003.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.
- BUSQUET, M. et al. Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 2, p. 761-771, 2006.
- BUTLER, M. et al. Evaluation of a high-fibre total mixed ration as a dry cow feeding strategy for spring-calving Holstein Friesian dairy cows. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 136, n. 2, p. 85-92, 2011.
- BUTLER, S. T. Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. **Journal of Endocrinology**, London, v. 176, n. 2, p. 205-217, 2003.
- CALAMARI, L. et al. Rumination time around calving: An early signal to detect cows at greater risk of disease. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 6, p. 3635–3647, 2014.
- CALSAMIGLIA, S. et al. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 6, p. 2580–2595, 2007.
- CARDOSO, F. C. et al. Prepartum nutritional strategy affects reproductive performance in dairy cows. **Journal of dairy science**, Champaign, v. 96, n. 9, p. 5859-5871, 2013.

- CARDOZO, P. W. et al. Effects of natural plant extracts on ruminal protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, n. 11, p. 3230-3236, 2004.
- CARVALHO, B. C. et al. Avaliação de diferentes manejos pré-parto and sobre o peso e o escore da condição corporal de vacas mestiças F1 Holandês x Zebu. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niterói, v. 16, n. 2, p. 62-67, 2009.
- CERVATO, G. et al. Antioxbdant properties of oregano (*Origanum vulgare*) Leaf extracts. **Journal of Food Biochemistry**, Westport, v. 24, n. 6, p. 453-465, 2000.
- CHEBEL, R. C. et al. Social stressors and their effects on immunity and health of periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 99, n. 4, p. 3217-3228, 2016.
- CHRISTAKI, E. et al. Aromatic plants as a source of bioactive compounds. **Agriculture**, Basel, v. 2, n. 3, p. 228-243, 2012.
- CLEMENT, P. et al. Short communication: Added value of rumination time for the prediction of dry matter intake in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 10, p. 6531–6535, 2014.
- COBELLIS, G.; TRABALZA-MARINUCCI, M.; YOU, Z. Critical evaluation of essential oils as rumen modifiers in ruminant nutrition: A review. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 545, p. 556-568, 2016.
- COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.
- CURTIS, C. R. et al. Path Analysis of Dry Period Nutrition, Postpartum Metabolic and Reproductive Disorders, and Mastitis in Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 68, n. 9, p. 2347-2360, 1985.
- CYBORAN, S. et al. Concentrated green tea supplement: Biological activity and molecular mechanisms. **Life Sciences**, Oxford, v. 126, p. 1-9, 2015.
- DADO, R. G.; ALLEN, M. S. Intake limitations, feeding behavior, and rumen function of cows challenged with rumen fill from dietary fiber or inert bulk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, n. 1, p. 118–133, 1995.
- DANN, H. M.; DRACKLEY, J. K. Carnitine palmitoyltransferase I in liver of periparturient dairy cows: effects of prepartum intake, postpartum induction of ketosis, and periparturient disorders. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, n. 11, p. 3851-3859, 2005.
- DANN, H. M. et al. Diets during far-off and close-up dry periods affect periparturient metabolism and lactation in multiparous cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 9, p. 3563-3577, 2006.
- DANTZER, R.; KELLEY, K. W. Twenty years of research on cytokine- induced sickness behavior. **Brain Behavior and Immunity**, San Diego, v. 21, n. 2, p. 153–160, 2007.

DE KOSTER, J. D.; OPSOMER, G. Insulin resistance in dairy cows. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 29, n. 2, p. 299-322, 2013.

DE VRIES, T.J. et al. Repeated ruminal acidosis challenges in lactating dairy cows at high and low risk for developing acidosis: Feeding, ruminating, and lying behavior. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 10, p. 5067-5078, 2009.

DEDL, H.; ELSSSENWEGER, T. Phytogetic feeds additives: an alternative? **International Pigs Topics**, Kelleythorpe, v. 15, n. 6, p. 33-34, 2000.

DOLL, K.; SICKINGER, M.; SEEGER, T. New aspects in the pathogenesis of abomasal displacement. **The Veterinary Journal**, London, v. 181, n. 2, p. 90-96, 2009.

DOLLINGER, J.; KAUFMANN, O. Feeding behaviour in dairy cows with and without the influence of clinical disease or subclinical disorders. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 56, n. 1, p. 149-159, 2013.

DOUGLAS, G. N. et al. Prepartal plane of nutrition, regardless of dietary energy source, affects periparturient metabolism and dry matter intake in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 6, p. 2141-2157, 2006.

DRACKLEY, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, n. 11, p. 2259-2273, 1999.

DRACKLEY, J. K. Steady as She Goes: Rethinking Dry Cow Nutrition. In: MID-SOUTH RUMINANT NUTRITION CONFERENCE, 2008, Arlington. **Proceedings**... Arlington, Texas: [s.n.], 2008.

DRACKLEY, J. K. et al. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. **Italian Journal of Animal Science**, Bologna, v. 4, n. 4, p. 323-344, 2005.

DRACKLEY, J. K.; OVERTON, T. R.; DOUGLAS, G. N. Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, supl., p. E100-E112, 2001.

DRACKLEY, J. K.; CARDOSO, F. C. Prepartum and postpartum nutritional management to optimize fertility in high-yielding dairy cows in confined TMR systems. **Animal**, Cambridge, v. 8, n. s1, p. 5-14, 2014.

EVANS, J. D.; MARTIN, S. A. Effects of thymol on ruminal microorganisms. **Current Microbiology**, New York, v. 41, n. 5, p. 336-340, 2000.

FACÓ, O. et al. Análise do desempenho produtivo de diversos grupos genéticos Holandês x Gir no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 5, p. 1944-1952, 2002.

FARKAS, O.; JAKUS, J.; HÉBERGER, K. Quantitative structure – antioxidant activity relationships of flavonoid compounds. **Molecules**, Basel, v. 9, n. 12, p. 1079–1088, 2004.

FRANZ, C.; BASER, K. H. C.; WINDISCH, W. Essential oils and aromatic plants in animal feeding—a European perspective. A review. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 25, n. 5, p. 327-340, 2010.

FREITAS, M. S. et al. Comparação da produção de leite e de gordura e da duração da lactação entre cinco “graus de sangue” originados de cruzamentos entre Holandês e Gir em Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 53, n. 6, p. 708-713, 2001.

GABBI, A. M.; VIÉGAS, J.; MORAES, R. S. Hematological parameters of dairy heifers submitted to diets with phytogetic additives. **Brazilian Journal of Health and Animal Production**, Ondina, v. 10, n. 4, p. 917-928, 2009a.

GABBI, A. M. et al. Productive performance and behavior of dairy heifers submitted to diets with phytogetic additive. **Brazilian Journal of Health and Animal Production**, Ondina, v. 10, n. 4, p. 949-962, 2009b.

GARRO, C. J.; MIAN, L.; COBOS ROLDÁN, M. Subclinical ketosis in dairy cows: prevalence and risk factors in grazing production system. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 98, n. 5, p. 838-844, 2014.

GINANE, C.; BAUMONT, R.; FAVREAU-PEINGÉ, A. Perception and hedonic value of basic tastes in domestic ruminants. **Physiology and Behavior**, Elmsford, v. 104, n. 5, p. 666-674, 2011.

GLADINE, C. et al. Bioavailability and antioxidant capacity of plant extracts rich in polyphenols, given as a single acute dose, in sheep made highly susceptible to lipoperoxidation. **British Journal of Nutrition**, London, v. 98, n. 4, p. 691-701, 2007.

GOFF, J. P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. **The Veterinary Journal**, London, v. 176, n. 1, p. 50–57, 2008.

GOLDHAWK, C. et al. Prepartum feeding behavior is an early indicator of subclinical ketosis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 10, p. 4971–4977, 2009.

GONÇALVES, G. et al. Green tea extract improves the oxidative state of the liver and brain in rats with adjuvant-induced arthritis. **Food and Function**, Cambridge, v. 6, n. 8, p. 2701-2711, 2015.

GONZÁLEZ, L. A. et al. Changes in feeding behavior as possible indicators for the automatic monitoring of health disorders in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 3, p. 1017-1028, 2008.

GRAUGNARD, D. E. et al. Blood immunometabolic indices and polymorphonuclear neutrophil function in peripartum dairy cows are altered by

level of dietary energy prepartum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 4, p. 1749-1758, 2012.

GRAUGNARD, D. E. et al. Liver lipid content and inflammometabolic indices in periparturient dairy cows are altered in response to preparturient energy intake and postparturient intramammary inflammatory challenge. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 96, n. 2, p. 918-935, 2013.

GREGORINI, P. et al. A note on rumination behavior of dairy cows under intensive grazing systems. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 158, n. 1, p. 151-156, 2013.

GRUMMER, R. R. et al. Effect of preparturient and postparturient dietary energy on growth and lactation of primiparous cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, n. 1, p. 172-180, 1995.

GRUMMER, R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 9, p. 2820-2820, 1995.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**. 7. ed. Barueri: Manole, 2004. 513 p.

HEISER, A. et al. Grazing dairy cows had decreased interferon- γ , tumor necrosis factor, and interleukin-17, and increased expression of interleukin-10 during the first week after calving. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 98, n. 2, p. 937-946, 2015.

HELANDER, I. M. et al. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 9, p. 3590-3595, 1998.

HERNANDEZ, F. et al. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. **Poultry Science**, College Station, v. 83, n. 2, p. 169-174, 2004.

HONORATO, L. A. et al. Particularidades relevantes da interação humano-animal para o bem-estar e produtividade de vacas leiteiras. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 2, p. 332-339, 2012.

HOOK, S. E.; WRIGHT, A. D. G.; MCBRIDE, B. W. Methanogens: methane producers of the rumen and mitigation strategies. **Archaea**, New York, v. 2010, p. 1-11p, 2010.

HRISTOV, A. N. et al. Effect of *Origanum vulgare* L. leaves on rumen fermentation, production, and milk fatty acid composition in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 96, n. 2, p. 1189-1202, 2013.

HUANG, W. et al. Reduced energy density of close-up diets decrease ruminal pH and increase concentration of volatile fatty acids postpartum in Holstein cows. **Animal Science Journal**, Tokyo, v. 88, n. 11, p. 1700-1708, 2017.

HUZZEY, J. M. et al. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 7, p. 3220-3233, 2007.

INGVARTSEN, K. L. Feeding-and management-related diseases in the transition cow: Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 126, n. 3-4, p. 175-213, 2006.

ISHIHARA, N. et al. Improvement of intestinal microflora balance and prevention of digestive and respiratory organ diseases in calves by green tea extracts. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 68, n. 2, p. 217-229, 2001.

JANOVICK, N. A.; BOISCLAIR, Y. R.; DRACKLEY, J. K. Prepartum dietary energy intake affects metabolism and health during the periparturient period in primiparous and multiparous Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, n. 3, p. 1385-1400, 2011.

JANOVICK, N. A.; DRACKLEY, J. K. Prepartum dietary management of energy intake affects postpartum intake and lactation performance by primiparous and multiparous Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 7, p. 3086–102, 2010.

JENSEN, M. B.; PROUDFOOT, K. L. Effect of group size and health status on behavior and feed intake of multiparous dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 100, n. 12, p. 9759-9768, 2017.

JOUANY, J. P.; MORGAVI, D. P. Use of 'natural' products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. **Animal**, Cambridge, v. 1, n. 10, p. 1443-1466, 2007.

KASKE, M. et al. The assessment of the frequency of chews during rumination enables an estimation of rumination activity in hay-fed sheep. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 86, n. 3-4, p. 83–89, 2002.

KAUFMAN, E. I. et al. Association of rumination time and health status with milk yield and composition in early-lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 101, n. 1, p. 462-471, 2017.

KHAN, N.; MUKHTAR, H. Tea polyphenols for health promotion. **Life Sciences**, Oxford, v. 81, n. 7, p. 519-533, 2007.

KHIAOSA-ARD, R.; ZEBELI, Q. Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 91, n. 4, p. 1819-1830, 2013.

KNAPP, J. R.; BALDWIN JR, R. L. Regulation of ketogenesis in dairy cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, Suppl 1, p. 522, 1990.

- KOLLING, G. J. et al. Oregano extract added into the diet of dairy heifers changes feeding behavior and concentrate intake. **The Scientific World Journal**, New York, v. 2016, p. 6, 2016.
- KOLLING, G. J. et al. Performance and methane emissions in dairy cows fed oregano and green tea extracts as feed additives. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 2018.
- KOMATSU, T. et al. Physiological changes during feeding and rumination in cows. **Animal Science Journal**, Tokyo, v. 85, n. 3, p. 271-276, 2014.
- KUHLA, B.; METGES, C. C.; HAMMON, H. M. Endogenous and dietary lipids influencing feed intake and energy metabolism of periparturient dairy cows. **Domestic Animal Endocrinology**, Alburn, v. 56, p. S2-S10, 2016.
- LACETERA, N. et al. Lymphocyte functions in overconditioned cows around parturition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, n. 6, p. 2010-2016, 2005.
- LAGUNA, J. G. et al. Expression of hepatic genes related to energy metabolism during the transition period of Holstein and F1 Holstein-Gir cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 100, n. 12, p. 9861-9870, 2017.
- LAGOURI, V. et al. Composition and antioxidant activity of essential oils from oregano plants grown wild in Greece. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung**, Berlin, v. 197, n. 1, p. 20-23, 1993.
- LAMBERT, J. D.; YANG, C. S. Cancer chemopreventive activity and bioavailability of tea and tea polyphenols. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, Amsterdam, v. 523, p. 201-208, 2003.
- LAMBERT, R. J. W. et al. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 91, n. 3, p. 453-462, 2001.
- LAMOTHE, S. et al. Interaction of green tea polyphenols with dairy matrices in a simulated gastrointestinal environment. **Food and Function**, Cambridge, v. 5, n. 10, p. 2621-2631, 2014.
- LAUZON, K. et al. Antioxidants to prevent bovine neutrophil-induced mammary epithelial cell damage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, n. 12, p. 4295-4303, 2005.
- LE ROITH, D. et al. The Somatomedin Hypothesis. **Endocrine Reviews**, Baltimore, v. 22, n. 1, p. 53-74, 2001.
- LEBLANC, S. J. et al. Advances in Disease Prevention in Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 4, p. 1267-1279, 2006.
- LEE, K. W. et al. Dietary carvacrol lowers body weight gain but improves feed conversion in female broiler chickens. **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v. 12, n. 4, p. 394-399, 2003.

- LEJONKLEV, J. et al. Effect of oregano and caraway essential oils on the production and flavor of cow milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 99, n. 10, p. 7898-7903, 2016.
- LEROY, J. L. M. R.; VAN SOOM, A.; OPSOMER, G. Reduced fertility in high-yielding dairy cows: Are the oocyte and embryo in danger? Part II. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 43, n. 5, p. 623-632, 2008.
- LIN, B. et al. Effects of essential oil combinations on sheep ruminal fermentation and digestibility of a diet with fumarate included. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 184, n. 1-4, p. 24-32, 2013.
- LOPES, B. C. et al. Escore da condição corporal: ferramenta para o manejo reprodutivo de fêmeas leiteiras. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 36, p. 88-99, 2015.
- LUCY, M. C. Functional differences in the growth hormone and insulin-like growth factor axis in cattle and pigs: Implications for post-partum nutrition and reproduction. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 43, n. s2, p. 31-39, 2008.
- LUCY, M. C.; JIANG H.; KOBAYASHI, Y. Changes in the somatotropic axis associated with the initiation of lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, p. E113-E119, 2001.
- LUCY, M. C. et al. Somatotropic axis components and nutrient partitioning in genetically diverse dairy cows managed under different feed allowances in a pasture system. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 2, p. 526-539, 2009.
- LUKAS, J. M. et al. A study of methods for evaluating the success of the transition period in early-lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 98, n. 1, p. 250-262, 2015.
- MACDONLD, K. A. et al. A comparison of three strains of holstein-friesian grazed on pasture and managed under different feed allowances. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 4, p. 1693-1707, 2008.
- MACIEJ, J. et al. Short communication: Effects of oral flavonoid supplementation on the metabolic and antioxidative status of newborn dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 99, n. 1, p. 805-811, 2016.
- MADALENA, F. E.; PEIXOTO, M. G. C. D.; GIBSON, J. Dairy cattle genetics and its applications in Brazil. **Livestock Research for Rural Development**, Cali, v. 24, n. 6, p. 1-49, 2012.
- MALECKY, M.; BROUDISCOU, L. P.; SCHMIDELY, P. Effects of two levels of monoterpene blend on rumen fermentation, terpene and nutrient flows in the duodenum and milk production in dairy goats. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 154, n. 1-2, p. 24-35, 2009b.
- MALECKY, M.; FEDELE, V.; BROUDISCOU, L. P. In vitro degradation by mixed rumen bacteria of 17 mono-and sesquiterpenes typical of winter and

spring diets of goats on Basilicata rangelands (southern Italy). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 89, n. 3, p. 531-536, 2009a.

MANACH, C. et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.

MANACH, C. et al. Comparison of the bioavailability of quercetin and catechin in rats. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 27, n. 11-12, p. 1259-1266, 1999.

MCMANUS, C. et al. Características produtivas e reprodutivas de vacas Holandesas e mestiças Holandês× Gir no Planalto Central. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 5, p. 819-823, 2008.

MENDONÇA, S. D. S. et al. Comportamento ingestivo de vacas leiteiras alimentadas com dietas à base de cana-de-açúcar ou silagem de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 3, p. 723-728, 2004.

MERTENS, D. R. Creating a system for meeting the fibre requirements of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 7, p. 1463-1481, 1997.

MICHIELS, J. et al. In vitro degradation and in vivo passage kinetics of carvacrol, thymol, eugenol and trans-cinnamaldehyde along the gastrointestinal tract of piglets. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 88, n. 13, p. 2371-2381, 2008.

MIRZA, B. et al. Neurochemical and behavioral effects of green tea (camellia sinensis): A model study. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Science**, Karachi, v. 26, n. 3, p. 511-516, 2013.

MOALLEN, U. et al. Performance of high-yielding dairy cows supplemented with fat or concentrate under hot and humid climates. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 7, p. 3192-3202, 2010.

MOSS, A. R.; JOUANY, J. P.; NEWBOLD, J. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. In: ANNALES DE ZOOTECHNIE, 49., 2000, Essonne. **Annais...** Essonne: Institut national de la recherche agronomique, 2000. p. 231-253.

MOUES, K. M. et al. Dietary-induced negative energy balance has minimal effects on innate immunity during a *Streptococcus uberis* mastitis challenge in dairy cows during midlactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 9, p. 4301-4316, 2009.

NAKAGAWA, K.; OKUDA, S.; MIYAZAWA, T. Dose-dependent incorporation of tea catechins, (-)-epigallocatechin-3-gallate and (-)-epigallocatechin, into human plasma. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 61, n. 12, p. 1981-1985, 1997.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of Dairy Cattle**. Washington: National Academies Press, 2001.

NEWTON, K.; DIXIT, V. M. Signaling in innate immunity and inflammation. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, Woodbury, v. 4, n. 3, p. a006049, 2012.

NIKADO, H. Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. **Science**, Washington, v. 264, n. 5157, p. 382-387, 1994.

NISHIDA, T. et al. Effects of Green Tea (*Camellia sinensis*) Waste Silage and Polyethylene Glycol on Ruminal Fermentation and Blood Components in Cattle. **Asian-Australasian Journal Animal Science**, Seoul, v. 19, n. 12, p. 1728–1736, 2006.

NONNECKE, B. J. et al. Effects of the mammary gland on functional capacities of blood mononuclear leukocyte populations from periparturient cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 7, p. 2359-2368, 2003.

NOSTRO, A.; PAPALIA, T. Antimicrobial activity of carvacrol: current progress and future prospectives. **Recent Patents on Anti-infective Drug Discovery**, Saif Zone, v. 7, n. 1, p. 28-35, 2012.

OH, J.; HRISTOV, A. N. Effects of plant-derived bio-active compounds on rumen fermentation, nutrient utilization, immune response, and productivity of ruminant animals. In: JELIAZKOV, V. D.; CANTRELL, C. L. **Medicinal and Aromatic Crops: Production, Phytochemistry, and Utilization**. Oxford: Oxford University Press Inc, 2016. p. 167-186.

OH, J. et al. Immune and production responses of dairy cows to postruminal supplementation with phytonutrients. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 96, n. 12, p. 7830-7843, 2013.

OVERTON, T. R.; WALDRON, M. R. Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, p. E105-E119, 2004.

PACHECO, G. G. M. et al. Behavioural changes in dairy cows with lameness in an automatic milking system. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 150, p. 1-8, 2014.

PARASKEVAKIS, N. Effects of dietary dried Greek Oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) supplementation on blood and milk enzymatic antioxidant indices, on milk total antioxidant capacity and on productivity in goats. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 209, p. 90-97, 2015.

PATRA, A. K. Effects of essential oils on rumen fermentation, microbial ecology and ruminant production. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad, v. 6, p. 416-428, 2011.

PATRA, A. K.; YU, Z. Effects of essential oils on methane production and fermentation by, and abundance and diversity of, rumen microbial populations. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 78, n. 12, p. 4271-4280, 2012.

PEIXOTO-NEVES, D. et al. Vasorelaxant effects of the monoterpene phenol isomers, carvacrol and thymol, on rat isolated aorta. **Fundamental and Clinical Pharmacology**, Paris, v. 24, n. 3, p. 341-350, 2009.

PEREIRA, C. C. J. **Fundamentos de Bioclimatologia Aplicados à Produção Animal**. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2005, 195 p.

PEREIRA, E. S. et al. Consumo voluntário em ruminantes. **Semina Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, n. 1, p. 191-196, 2003.

PROUDFOOT, K. L.; WEARY, D. M.; VON KEYSERLINGK, M. A. Linking the social environment to illness in farm animals. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 138, n. 3, p. 203-215, 2012.

REIS FILHO, J. C. et al. Population structure of Brazilian Gyr dairy cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 12, p. 2640-2645, 2010.

REYNOLDS, C. K. et al. Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 4, p. 201-217, 2003.

RIBEIRO, E. S. et al. Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 96, n. 9, p. 5682-5697, 2013.

ROCHE, J. R. Milk production responses to pre-and postcalving dry matter intake in grazing dairy cows. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 110, n. 1, p. 12-24, 2007.

ROCHE, J. R. et al. Nutritional management of the transition cow in the 21st century—a paradigm shift in thinking. **Animal Production Science**, Melbourne, v. 53, n. 9, p. 1000-1023, 2013.

ROCHE, J. R.; BERRY, D. P.; KOLVER, E. S. Holstein-Friesian strain and feed effects on milk production, body weight, and body condition score profiles in grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 9, p. 3532-3543, 2006.

ROCHE, J. R. et al. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 12, p. 5769-5801, 2009.

ROCHE, J. R.; KOLVER, E. S.; KAY, J. K. Influence of precalving feed allowance on periparturient metabolic and hormonal responses and milk production in grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, n. 2, p. 677– 689, 2005.

ROTTA, P. P. et al. Effects of day of gestation and feeding regimen in Holsteinx Gyr cows: II. Maternal and fetal visceral organ mass. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 98, n. 5, p. 3211-3223, 2015a.

ROTTA, P. P. et al. Effects of day of gestation and feeding regimen in Holstein x Gyr cows: I. Apparent total-tract digestibility, nitrogen balance, and fat deposition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 98, n. 5, p. 3197-3210, 2015b.

RUAS, J. R. M.; MENEZES, A. C.; CARVALHO, B. C. Sistema de produção de leite com vacas F1 Holandês x Zebu. **Informe agropecuário**, Belo Horizonte, v. 31, n. 258, p. 63-71. 2010.

SAEED, M. et al. Phytochemistry, Modes of Action and Beneficial Health Applications of Green Tea (*Camellia sinensis*) in Humans and Animals. **International Journal of Pharmacology**, Dubai, v. 13, n. 7, p. 698-708, 2017.

SAVLEV, S. U. et al. Butyryl-and acetyl-cholinesterase inhibitory activities in essential oils of *Salvia* species and their constituents. **Phytotherapy Research**, London, v. 18, n. 4, p. 315-324, 2004.

SCHIRMANN, K. et al. Rumination and its relationship to feeding and lying behavior in Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 6, p. 3212-3217, 2012.

SCHLICHTERLE-CERNY, H. et al. Changes in terpene composition from pasture to cheese. **Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene**, Bern, v. 95, n. 6, p. 681-688, 2004.

SCHOENBERG, K. M.; EHRHARDT, R. M.; OVERTON, T. R. Effects of plane of nutrition and feed deprivation on insulin responses in dairy cattle during late gestation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 2, p. 670-682, 2012.

SENANAYAKE, S. N. Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications—A review. **Journal of Functional Foods**, London, v. 5, n. 4, p. 1529-1541, 2013.

SEPÚLVEDA-VARAS, P.; WEARY, D. M.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. Lying behavior and postpartum health status in grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 10, p. 1-10, 2014.

SILVA, D. A. R. et al. Produção de leite de vacas da raça Holandesa de pequeno, médio e grande porte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 3, p. 501-506, 2011.

SOLÓRZANO-SANTOS, F.; MIRANDA-NOVALES, M. G. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 23, n. 2, p. 136-141, 2012.

SORDILLO, L. M.; CONTRERAS, G. A.; AITKEN, S. L. Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. **Animal Health Research Reviews**, Wallingford, v. 10, n. 1, p. 53-63, 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, Philadelphia, v. 29, n. 2, p. 267-278, 2013.

SORIANI, N.; TREVISI, E.; CALAMARI, L. Relationships between rumination time, metabolic conditions, and health status in dairy cows during the transition period. **Journal of Animal Science**, Champaign, n. 90, n. 12, p. 4544-4554, 2012.

STANGAFERRO, M. L. et al. Use of rumination and activity monitoring for the identification of dairy cows with health disorders: Part I. Metabolic and digestive disorders. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 99, n. 9, p. 7395-7410, 2016a.

STANGAFERRO, M. L. et al. Use of rumination and activity monitoring for the identification of dairy cows with health disorders: Part II. Mastitis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 99, n. 9, p. 1–11, 2016b.

STARP, C.; ALTEHELD, B.; STEHLE, P. Characteristics of (+)-catechin and (–)-epicatechin transport across pig intestinal brush border membranes. **Annals of Nutrition and Metabolism**, Basel, v. 50, n. 1, p. 59-65, 2006.

STER, C.; LOISELLE, M. C.; LACASSE, P. Effect of postcalving serum nonesterified fatty acids concentration on the functionality of bovine immune cells. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 2, p. 708-717, 2012.

TEKIPPE, E. et al. Rumen fermentation and production effects of *Organum vulgare* leaves in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, n. 10, p. 5065-5079, 2011.

THOMPSON, W. R. et al. Influence of body composition on energy requirement of beef cows during winter. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 56, n. 5, p. 1241–1252, 1983.

TRABACE, L. et al. Estrous cycle affects the neurochemical and neurobehavioral profile of carvacrol-treated female rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v. 255, n. 2, p. 169-175, 2011.

TREVISI, E. et al. Metabolic stress and inflammatory response in high-yielding, periparturient dairy cows. **Research in Veterinary Science**, London, v. 93, n. 2, p. 695-704, 2012.

ULTEE, A.; BENNIK, M. H. J.; MOEZELAAR, R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 68, n. 4, p. 1561-1568, 2002.

VAILATI-RIBONI, M. et al. Far-off and close-up dry matter intake modulate indicators of immunometabolic adaptations to lactation in subcutaneous adipose tissue of pasture-based transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 100, n. 3, p. 2334-2350, 2017.

- VAN HERTEM, T. et al. Lameness detection based on multivariate continuous sensing of milk yield, rumination, and neck activity. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 96, n. 7, p. 4286-4298, 2013.
- VASCONCELLOS, B. F. et al. Efeitos genéticos e ambientais sobre a produção de leite, o intervalo de partos e a duração da lactação em um rebanho leiteiro com animais mestiços, no Brasil. **Revista Ciência da Vida**, Rio de Janeiro, v. 23, p. 39-45, 2003.
- VICKERS, L. A. et al. Feeding a higher forage diet prepartum decreases incidences of subclinical ketosis in transition dairy cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 91, n. 2, p. 886-894, 2013.
- WASHBURN, S. P. et al. Reproduction, mastitis and body condition of seasonally calved Holstein and Jersey cows in confinement or pasture systems. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 1, p. 105–111, 2002.
- WEARY, D. M.; HUZZEY, J. M.; VON KEYSERLINGK, M. A. Board invited review: Using behavior to predict and identify ill health in animals. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, n. 2, p. 770–777, 2009.
- WEBER, P. S. et al. Pre-translational regulation of neutrophil L-selectin in glucocorticoid-challenged cattle. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 83, n. 3-4, p. 213-240, 2001.
- WEIN, S. et al. Systemic absorption of catechins after intraruminal or intraduodenal application of a green tea extract in cows. **PloS ONE**, San Francisco, v. 11, n. 7, p. e0159428, 2016.
- WINKLER, A. et al. Effects of a plant product consisting of green tea and curcuma extract on milk production and the expression of hepatic genes involved in endoplasmic stress response and inflammation in dairy cows. **Archives of Animal Nutrition**, Abingdon, v. 69, n. 6, p. 425-441, 2015.
- YOSHINO, K. et al. Formation of antioxidants from (-)-epigallocatechin gallate in mild alkaline fluids, such as authentic intestinal juice and mouse plasma. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, New York, v. 10, n. 4, p. 223-229, 1999.
- ZAMMIT, V. A. Carnitine acyltransferases: functional significance of subcellular distribution and membrane topology. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v. 38, n. 3, p. 199-224, 1999.
- ZERBE, H. et al. Altered functional and immunophenotypical properties of neutrophilic granulocytes in postpartum cows associated with fatty liver. **Theriogenology**, Stoneham, v. 54, n. 5, p. 771-786, 2000.
- ZHOU, Z. et al. Prepartal dietary energy level affects peripartal bovine blood neutrophil metabolic, antioxidant, and inflammatory gene expression. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 98, n. 8, p. 5492-5505, 2015.
- ZHU, Q. Y. et al. Stability of green tea catechins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 45, n. 12, p. 4624–4628, 1997.

ZOTTI, M. et al. Carvacrol: from ancient flavoring to neuromodulatory agent. **Molecules**, Basel, v. 18, n. 6, p. 6161–6172, 2013.

VITA

Sheila Cristina Bosco Stivanin, nascida em 13 de janeiro de 1989 na cidade de Rondinha, Rio Grande do Sul. Filha de Marli Teresinha Bosco Fumagali e Nédio Stivanin. Realizou seu ensino fundamental primário nas Escolas Estaduais Guerino Binn e Conde D'Eu, no município de Rondinha. Seu ensino médio foi realizado na Escola Estadual Conde D'Eu, do mesmo município.

Em 2007 ingressou no curso de Zootecnia, na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) campus CESNORS – Palmeira das Missões. Na UFSM, além de cumprir as disciplinas obrigatórias do curso de Zootecnia, desenvolveu e colaborou em várias atividades extracurriculares e experimentos científicos, especialmente no Setor de Forragicultura do Departamento de Zootecnia como bolsista FAPERGS.

Em 2012 iniciou seu Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), na área de concentração em Produção Animal, com ênfase em Forragicultura. Foi bolsista da Capes durante todo o seu mestrado.

Em 2014 iniciou seu Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, na área de concentração de Produção Animal, e linha de pesquisa Sistemas de Produção e Nutrição de Ruminantes.

Durante sua vida acadêmica e profissional, atuou em projetos de pesquisa em forragicultura, nutrição de bovinos de corte, leite e ovinos além de comportamento animal, publicando e colaborando com a publicação de artigos científicos e resumos em congressos.