

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE ENGENHARIAS, CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

RENATA THAIS LOMAN

AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DO ESTERCO BOVINO RECICLADO USADO
COMO CAMA E SEU EFEITO SOBRE A QUALIDADE DO LEITE DE VACAS EM
CONFINAMENTO

PONTA GROSSA

2025

RENATA THAIS LOMAN

AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DO ESTERCO RECICLADO USADO COMO
CAMA E SEU EFEITO SOBRE A QUALIDADE DO LEITE DE VACAS EM
CONFINAMENTO

Dissertação apresentada para obtenção do título
de mestre na Universidade Estadual de Ponta
Grossa, Zootecnia (Produção Animal).

Orientadora: Prof.^a Dra. Adriana de Souza
Martins

Coorientadora: Prof.^a Sandra Maria Simonelli

PONTA GROSSA

2025

Loman, Renata Thais

L839

Avaliação das características do esterco bovino reciclado usado como cama e seu efeito sobre a qualidade do leite de vacas em confinamento / Renata Thais Loman. Ponta Grossa, 2025.

51 f.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia - Área de Concentração: Produção Animal), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Adriana de Souza Martins.

Coorientadora: Profa. Dra. Sandra Maria Simonelli.

1. Contagem padrão em placas. 2. Contagem de células somáticas. 3. Compostagem. 4. Free stall. 5. Microorganismos. I. Martins, Adriana de Souza. II. Simonelli, Sandra Maria. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Produção Animal. IV.T.

CDD: 636.2

FOLHA DE APROVAÇÃO

RENATA THAIS LOMAN

AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DO ESTERCO BOVINO RECICLADO USADO COMO CAMA E SEU EFEITO SOBRE A QUALIDADE DO LEITE DE VACAS EM CONFINAMENTO

Dissertação apresentada para obtenção do título
de mestre na Universidade Estadual de Ponta
Grossa, Zootecnia (Produção Animal).

Ponta Grossa, 23 de julho de 2025

Documento assinado digitalmente
 ADRIANA DE SOUZA MARTINS
Data: 20/10/2025 13:33:11-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Adriana de Souza Martins

Doutora em Produção Animal

Universidade Estadual de Ponta Grossa

Documento assinado digitalmente
 VIVIAN FISCHER
Data: 16/10/2025 10:19:32-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Vivian Fischer

Doutora em Produção Animal

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Documento assinado digitalmente
 GERALDO TADEU DOS SANTOS
Data: 03/10/2025 15:50:01-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos

Doutor em Produção e Fisiologia Animal

Universidade Estadual de Maringá

AGRADECIMENTOS

Chegar até aqui foi um caminho de muitos desafios, aprendizados e, sobretudo, de muito apoio. Por isso, não poderia deixar de expressar minha profunda gratidão a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização desta etapa tão importante da minha vida.

Agradeço, primeiramente, a Deus, por me fortalecer, me guiar e me sustentar em cada momento dessa jornada chamada vida.

À minha família, meu alicerce, minha base e meu maior exemplo de amor e dedicação. O apoio incondicional, o incentivo constante e a confiança em meu potencial foram fundamentais para que eu pudesse seguir em frente, mesmo nos momentos mais desafiadores. Ao meu marido, Wagner, que esteve ao meu lado e todos os momentos, me deu suporte e amor.

À minha orientadora, Professora Dra. Adriana Martins, pela confiança, paciência, dedicação e por todo o suporte técnico, científico e humano durante todo esse processo. Sua orientação foi essencial para meu crescimento profissional e pessoal.

À minha coorientadora, Professora Dra. Sandra Simonelli, pela valiosa colaboração nas análises estatísticas, pela disponibilidade, atenção e disposição em contribuir para o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço à equipe da empresa Paranatrator, pelo suporte técnico e pela parceria indispensável na execução deste projeto.

Um agradecimento especial ao produtor rural que gentilmente cedeu sua propriedade e colaborou de forma fundamental para a realização dos experimentos, demonstrando enorme generosidade e comprometimento com a pesquisa e com o desenvolvimento da atividade leiteira.

À Dra. Larissa Glucoski e o Professor Marcelo Vicari pela grande colaboração com as análises de expressão gênica. Também sou muito grata aos alunos Jozias e Raphael, que estiveram ao meu lado durante as coletas e os experimentos, contribuindo com empenho, dedicação e companheirismo.

Ao professor Adriel e à técnica do laboratório de solos Mariana, do departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela colaboração e contribuição com conhecimento prático nas análises de carbono e nitrogênio.

A cada pessoa que, direta ou indiretamente, fez parte desse caminho, deixo aqui minha sincera gratidão.

RESUMO

LOMAN, R. **Avaliação das características do esterco bovino reciclado usado como cama e seu efeito sobre a qualidade do leite de vacas em confinamento.** Orientador(a): Adriana de Souza Martins. Ponta Grossa, 2025. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2025.

O custo de Produção em sistemas de confinamento no Brasil é um dos principais entraves da pecuária leiteira. A serragem é o material mais utilizado como cama, porém o custo pode variar assim como sua disponibilidade. Como alternativa, tem-se utilizado o esterco reciclado (ER) em sistemas *free stall*, embora seus riscos e benefícios ainda não estejam claramente elucidados no Brasil, especialmente na região Centro-Oriental do Paraná. Este estudo teve como objetivo analisar o uso do ER por meio de dois experimentos. No primeiro experimento foi comparado cinco tratamentos sendo eles: serragem sem óxido de cálcio (CaO); serragem + ER sem CaO; serragem + ER com CaO; ER sem CaO; e ER com CaO. Os materiais foram distribuídos em caixas de madeira (mini-camas) com seis repetições por tratamento. Foram realizadas coletas de amostras semanais dos materiais durante 30 dias para determinação de matéria seca (MS), pH, nitrogênio (N), carbono (C), contagem padrão em placas (CPP) e análise microbiológica. O delineamento foi inteiramente casualizado em parcelas subdivididas no tempo. Houve interação entre tratamento e tempo de compostagem para MS, N, C, pH e CPP. A serragem apresentou maior MS (55%) em comparação ao ER (32%). As camas com ER tiveram maior CPP inicial (290.000 UFC/g) em relação à serragem (576 UFC/g), mas reduziram significativamente com o tempo de compostagem. A temperatura diminuiu de 24 °C para 20 °C, sendo considerada baixa em todos os tratamentos. No segundo experimento O segundo experimento foi conduzido em uma propriedade leiteira, durante 63 dias avaliando dois materiais como cama: esterco reciclado e serragem misturada ao esterco reciclado (proporção de 50%), em sistema Free stall, ambos com adição de hidróxido de cálcio (Ca (OH)₂) e CaO. Analisaram-se semanalmente os teores de MS, N, C, CPP, pH e cultura microbiológica das camas e a produção e composição do leite/vaca/dia. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com dois tratamentos e nove repetições (camas/vacas) por tratamento, com parcelas subdivididas no tempo. Houve interação ($P < 0,05$) entre o tipo de cama e os dias de amostragem das camas. As camas com ER apresentaram menor teor de MS (78%) em relação as camas com ER e serragem (86%). No 63º dia de experimento, o tratamento RE com serragem apresentou maior CPP (334.000.800 UFC/g) comparado ao tratamento ER (334.000 UFC/g), sugerindo maior contaminação da serragem. Da mesma forma, houve maior razão C:N o tratamento com serragem. A produção e a composição do leite não diferiram ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Não foram observadas diferenças na expressão gênica das camas com serragem e ER ou somente com ER. A adição de óxido de Ca e hidróxido de Ca e o tempo de compostagem melhoram a qualidade do esterco utilizado como cama. Nestas condições, camas com ER tratadas óxido de Ca e hidróxido de Ca não prejudicaram a saúde da glândula mamária das vacas em sistema free stall, apresentando média de CCS de 61.000 cels/mL.

Palavras-chave: Contagem padrão em placas, contagem de células somáticas, compostagem, *free stall*, microrganismos, serragem.

ABSTRACT

LOMAN, R. **Evaluation of the characteristics of recycled bovine manure used as bedding and its effect on milk quality of confined dairy cows.** Advisor: Adriana de Souza Martins. Ponta Grossa, 2025. Dissertation (Master's in Animal Science) – State University of Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2025

Production cost in confinement systems in Brazil is one of the main challenges for dairy farming. Sawdust is the most common bedding material, but its cost and availability may vary. As an alternative, recycled manure (RM) has been used in free stall systems, although its risks and benefits remain unclear in Brazil, especially in the Center-Eastern region of Paraná. This study evaluated the use of RM in two experiments. In the first, five treatments were compared: sawdust without calcium oxide (CaO), sawdust + RM without CaO, sawdust + RM with CaO, RM without CaO, and RM with CaO. Materials were placed in mini-beds with six replications and evaluated over 30 days for dry matter (DM), pH, nitrogen (N), carbon (C), standard plate count (SPC), and microbiology. Significant interactions between treatment and time were observed for DM, N, C, pH, and SPC. Sawdust showed higher DM (55%) than RM (32%). Beds with RM had higher initial SPC (290,000 CFU/g) compared to sawdust (576 CFU/g), but values decreased with composting time. Temperature remained low in all treatments (24–20 °C). The second experiment, conducted on a dairy farm for 63 days, compared two bedding materials: RM and a 50% RM + sawdust mixture, both treated with Ca(OH)₂ and CaO. Weekly analyses included DM, N, C, pH, SPC, microbiology, and milk yield/composition. There was an interaction between bedding type and sampling days. RM beds had lower DM (78%) than RM + sawdust beds (86%). By day 63, the RM + sawdust treatment showed higher SPC (334,000,800 CFU/g) compared to RM (334,000 CFU/g), suggesting greater contamination. The RM + sawdust treatment also showed a higher C:N ratio. Milk yield, composition, and gene expression related to mammary health did not differ between treatments. The addition of CaO and Ca(OH)₂ and composting time improved RM quality. Under these conditions, RM bedding did not compromise mammary gland health, with an average somatic cell count of 61,000 cells/mL.

Keywords: composting, *Free stall*, microorganisms, Standart plate count, somatic cell count, sawdust.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1	Disposição dos tratamentos (camas) no local do experimento: 1 (vermelho): Serragem; 2 (roxo): Serragem+ esterco reciclado sem cal; 3 (verde): Serragem+ esterco reciclado com cal; 4 (amarelo): Esterco reciclado sem cal; 5 (azul claro): Esterco reciclado com cal. As letras A, B, C, D, E e F correspondem às repetições	17
Figura 2.2	Disposição dos tratamentos (mini camas) no local do experimento, galpão de alvenaria, aberto nas laterais e momento da pesagem do material para colocação nas caixas	18
Figura 2.3	Produção do Esterco reciclado por meio do equipamento Separador de Sólidos.....	18
Figura 2.4	Frequência relativa (%) dos microrganismos nos diferentes tipos de cama avaliados em relação ao total de microrganismos identificados em todos os tratamentos.....	29
Figura 3.1	Revolvimento da cama com a incorporação da cal, utilizando o trator com garfo acoplado. Fonte: a autora.....	36
Figura 3.2	Frequência relativa (%) dos microrganismos presentes nas camas, aos 60 dias de experimento.....	46
Figura 3.3	Análise da expressão dos genes antioxidantes comparando as amostras do tratamento ER + serragem (amostra A) e do tratamento ER (amostra B)	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1	Teores médios de matéria seca (MS) das camas avaliadas em função do dia de amostragem e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C) dos teores de MS.....	21
Tabela 2.2	Médias de CPP (x1.000 UFC/g) dos tipos de cama, em função do tempo de amostragem e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C).....	22
Tabela 2.3	Médias de pH dos diferentes tipos de cama, em função do tempo de amostragem, em dias níveis médios descritivos de probabilidade e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C).....	24
Tabela 2.4	Valores médios da temperatura das minis camas dos diferentes tipos de cama, em função do tempo de amostragem, e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C).....	25
Tabela 2.5	Médias dos teores de Carbono (C), em %, dos diferentes tipos de cama, em função do tempo de amostragem, em dias, e níveis médios descritivos de probabilidade e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C).....	26
Tabela 2.6	Médias dos teores de Nitrogênio (N), em %, dos diferentes tipos de cama, em função do tempo de amostragem, em dias, e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico.....	27
Tabela 2.7	Valores médios da Razão C/N dos diferentes tipos de cama, em função do tempo de amostragem, e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C).....	28
Tabela 3.1	Sequências dos <i>primers</i> dos genes <i>SOD1</i> , <i>SOD2</i> , <i>SOD3</i> , <i>CATALASE</i> , <i>GPx1</i> , <i>GPx3</i> e <i>GAPDH</i>	39
Tabela 3.2	Médias de Matéria Seca (MS) do esterco reciclado (ER) e esterco reciclado + serragem em função dos dias de amostragem e níveis médios descritivos de probabilidade e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C) dos valores de MS do esterco reciclado e esterco reciclado com serragem, em função dos tempos de amostragem da cama.....	40
Tabela 3.3	Médias de CPP (x 1.000 UFC/g) do esterco reciclado (ER) e esterco reciclado + serragem em função dos dias de amostragem e níveis médios descritivos de probabilidade e equações de regressão para efeitos linear	

	(L), quadrático (Q) e cúbico (C) dos valores de CBT (x 1.000 UFC/g) do esterco reciclado e esterco reciclado com serragem, em função dos tempos de amostragem da cama.....	41
Tabela 3.4	Médias de pH do esterco reciclado (ER) e esterco reciclado + serragem em função dos dias de amostragem e níveis médios descritivos de probabilidade e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C) dos valores de pH do esterco reciclado e esterco reciclado com serragem, em função dos tempos de amostragem da cama.....	42
Tabela 3.5	Médias de temperatura do esterco reciclado (ER) e esterco reciclado + serragem em função dos dias de amostragem e níveis médios descritivos de probabilidade e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C).....	43
Tabela 3.6	Médias de Carbono do esterco reciclado (ER) e esterco reciclado + serragem em função dos dias de amostragem e níveis médios descritivos de probabilidade e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C) dos valores de Carbono do esterco reciclado e esterco reciclado com serragem, em função dos tempos de amostragem da cama.....	44
Tabela 3.7	Médias da Razão Carbono Nitrogênio do esterco reciclado (ER) e esterco reciclado + serragem em função dos dias de amostragem e níveis médios descritivos de probabilidade e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C) dos valores de C:N do esterco reciclado e esterco reciclado com serragem, em função dos tempos de amostragem da cama.....	45
Tabela 3.8	Teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais (ST) e contagem de células somáticas (CCS) do leite em função dos tipos de cama.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS

C	Carbono
C:N e/ou C/N	Razão Carbono-Nitrogênio
CB	Compost Barn
CCS	Contagem de células somáticas
Cm	Centímetros
CV	Coeficiente de variação
ER	Esterco Reciclado
g/kg	Gramas por quilograma
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
Kg	Quilogramas
L	Litros
m	Metros
mL	Mililitros
Mm	Milímetros
MS	Matéria Seca
N	Nitrogênio
pH	Potencial hidrogeniônico
PR	Paraná
UEPG	Universidade Estadual de Ponta Grossa
UFC	Unidades formadoras de colônia

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA	11
REFERÊNCIAS.....	14
CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DO ESTERCO RECICLADO E DA SERRAGEM EM DIFERENTES COMBINAÇÕES COMO CAMA PARA VACAS EM CONFINAMENTO TIPO FREE STALL	15
2.1 INTRODUÇÃO.....	15
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
2.2.1 Descrição do local	16
2.2.2 Descrição do experimento	16
2.2.3 Análises laboratoriais.....	19
2.2.4 Análise estatística.....	20
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
2.4 CONCLUSÕES	30
REFERÊNCIAS.....	31
CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DO ESTERCO RECICLADO USADO COMO CAMA E SEU EFEITO SOBRE A QUALIDADE DO LEITE E EXPRESSÃO DE GENESANTIOXIDANTES DE VACAS EM CONFINAMENTO	34
3.1 INTRODUÇÃO.....	34
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.2.1 Descrição do local e delineamento experimental.....	35
3.2.2 Obtenção do esterco reciclado	36
3.2.3 Análises da composição do leite	36
3.2.4 Análises laboratoriais das camas	37
3.2.5 Análise estatística	38
3.2.6 Análises de expressão gênica	38
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
3.4 CONCLUSÕES	48
REFERÊNCIAS.....	49

CAPÍTULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA

O Paraná é o segundo maior estado produtor de leite do Brasil, segundo a pesquisa trimestral do Leite (IBGE, 2025). Em 2022, o Paraná produziu 12,92% da produção nacional de leite, sendo que desse, 22,42% foram produzidos na mesorregião centro Oriental, onde está localizada o município de Castro-PR (EMBRAPA, 2023). Considerada a capital nacional do leite, publicado no Diário Oficial da União em 27 de dezembro de 2017 (LUZ, 2023), o município de Castro é considerado um polo agropecuário, e se destaca pela alta produção e qualidade do leite produzido. Os rebanhos leiteiros especializados da região apresentam médias de Contagem de Células Somáticas (CCS) abaixo de 250.000 cels/mL, inferior à média de países como Estados Unidos e Europa. (Barbosa, 2021).

No Brasil, os sistemas intensivos de produção de leite mais utilizados são o *compost barn* e o *free stall*. Ambos produzem grande quantidade de dejetos que podem ter diferentes destinos, entre eles, o uso como fertilizantes nas lavouras e mais recentemente, o uso como cama para vacas em confinamento.

Em rebanhos manejados em sistemas de *compost barn*, é importante que o material utilizado favoreça o desenvolvimento de microrganismos aeróbicos, auxilie na eliminação de patógenos, mantenha a superfície seca e apresente custo acessível (Damasceno et al., 2020). Tradicionalmente, produtores utilizam resíduos madeireiros, como serragem e maravalha. Entretanto, a crescente demanda elevou os custos e reduziu a disponibilidade. Dessa forma, alternativas têm sido estudadas, como casca de amendoim, casca de arroz, casca de café, palhadas de culturas diversas, resíduos de papel e subprodutos da indústria sucroalcooleira (Damasceno et al., 2020).

Nos sistemas de confinamento *free stall*, as camas comumente utilizadas são serragem, areia, colchão de polipropileno. Lombard, et al. 2010, mencionam que as camas devem ser confortáveis para que as vacas se deitem, relativamente limpas, não causar lesões nos animais. Nesse estudo, realizado nos Estados Unidos foram comparados os tipos de cama, onde Lombard, et al. 2010 demonstraram que o colchão tem uma porcentagem maior de lesão de jarrete comparado a ER, areia e serragem. Lombard, et al. 2010, conclui que os fatores que influenciam a higiene dos animais, tempo deitada e lesões de jarrete, dependem do tipo da instalação de *free stall* e a região. Os fatores associados ao conforto dos animais podem depender do manejo da propriedade de acordo com os autores.

A mesorregião Centro Oriental Paranaense é formada por 14 municípios, incluindo os Campos Gerais, onde está localizado o município de Castro-PR. Essa região está inserida na

bacia do Rio Paraná e apresenta clima subtropical úmido. As altitudes registradas variam entre 500m e 1.200m, enquanto a precipitação anual média se mantém entre 1.400 e 1.600 mm (EMBRAPA, 2023). Diante disso, um dos principais fatores que influencia a qualidade da cama é a umidade relativa do ar. Portanto, por ser uma região mais úmida, o manejo em sistemas de compost barn na região é dificultado, destacando-se os sistemas de confinamento free stall. Nesse sentido, é importante destacar a necessidade de cuidados quanto ao uso de ER como cama em confinamento free stall, por ser um material orgânico e em processo de compostagem, podendo absorver umidade do ambiente, aumentando o risco de contaminação no úbere.

O material utilizado como cama é determinante para o conforto animal, sendo importante verificar a qualidade do material, custo e disponibilidade.

A areia é um material que pode ser utilizado como cama e proporciona conforto às vacas e por ser um material inerte reduz os riscos com contaminação na glândula mamária, reduzido os casos de mastite. No entanto, uma restrição em seu uso está no momento da limpeza da instalação, pois ocorre o depósito de areia na esterqueira, dificultando sua remoção, além do alto custo de implantação (Hogan *et al.*, 1999).

Os colchões de polipropileno ou de lascas de borracha também são uma opção. Como vantagens apresentam durabilidade aproximada de 8 anos, dependendo da composição, e requerem apenas manutenções a cada dois anos. Como desvantagem tem-se o custo elevado na aquisição e, principalmente, a falta de conforto aos animais, sendo muito rígidos, maior incidência de lesões de jarrete, havendo a necessidade de usar materiais como a serragem para aumentar o conforto (Cole e Hogan, 2016).

A serragem é outro material que pode ser usado como cama e possibilita o conforto aos animais, sendo muito utilizada por produtores de leite da região. No entanto, por ser um material orgânico, aumenta os riscos de contaminação no úbere. Outra dificuldade com o uso da serragem está no custo elevado, devido à alta procura, sendo muitas vezes comercializada a um custo elevado para o produtor (Favero *et al.*, 2016). Essa cama é renovada semanalmente e a principal forma de controle bacteriano é por meio da aplicação de hidróxido de cálcio, comumente conhecido como cal hidratada (Radavelli, 2018).

O Esterco Reciclado é uma alternativa e vem sendo utilizada como cama em várias regiões do mundo. Ele é obtido através da prensa dos resíduos da propriedade, a partir de um separador de sólidos, onde a parte líquida pode ser reutilizada em sistemas de flushing, como a lavagem de pisos ou como fertilizante agrícola e a parte sólida a partir do seu manejo pode ser reutilizado como cama de animais. O uso do ER proporciona uma diminuição de custo de produção em comparação à areia e serragem (Leach *et al.* 2014).

O uso ER em propriedades leiteiras no Brasil, especificamente nos Campos Gerais, Castro- PR, tem sido uma alternativa em razão à outras opções de cama: serragem, areia, colchões de polipropileno, entre outros. Porém, há poucos estudos que comprovem sua eficácia e sua qualidade como cama nessa região. A mesorregião Centro Oriental Paranaense, formada por 14 municípios, incluindo os Campos Gerais, onde está localizado Castro-PR. Essa região está inserida na bacia do Rio Paraná e apresenta clima subtropical úmido. As altitudes registradas variam entre 500m e 1.200m, enquanto a precipitação anual média se mantém entre 1.400 e 1.600 mm (EMBRAPA, 2023.)

Leach *et al.* (2014) realizaram um estudo na Inglaterra no qual 19 produtores de leite foram questionados sobre o uso de ER como cama. Os produtores relataram que entre os benefícios do ER está a diminuição de custos comparado às alternativas (areia e serragem). Verificou-se maior conforto dos animais com o uso da cama de ER, incluindo o aumento do tempo deitada e maior escore de limpeza do úbere. Os produtores relataram ainda a diminuição de lesões de jarrete. Os desafios relatados por esses produtores foram a manutenção do teor de matéria seca do material, além da maior mão de obra no uso do esterco reciclado. Nesse estudo, verificou-se aumento de CCS quando a cama apresentou maior teor de umidade, requerendo maior atenção no manejo.

De acordo com Frénchette *et al.* (2022) o uso de ER como cama pode comprometer a microbiota da glândula mamária, podendo aumentar a Contagem Padrão em Placa (CPP) no tanque. Os autores também verificaram aumento significativo dos casos de mastite com o uso do ER como cama, quando comparado a serragem. Por outro lado, Jambor *et al.* (2023) realizaram um estudo com vacas leiteiras confinadas com uso de ER e não observaram alteração na contagem de células somáticas (CCS) e nem na produção de leite. Os autores destacaram a importância de um controle rigoroso em relação à contaminação microbiana ao utilizar o ER.

Nos últimos anos tem se observado aumento na utilização do ER como cama em propriedades leiteiras do município de Castro e região, porém, não há um consenso em relação às recomendações de uso e manejo. Entre elas pode-se citar o tempo de armazenamento do esterco após passar pelo separador, uso de cal virgem e quantidade utilizada, uso de cal hidratada nas camas de free stall com esterco reciclado, regulagem do equipamento que irá influenciar no teor de umidade do ER, entre outras.

Diante do exposto, verifica-se a importância de estudos avaliando o uso do ER como cama em confinamentos tipo Free stall, destacando os benefícios, limitações e a sua aplicabilidade para os produtores de leite da região.

REFERÊNCIAS

- COLE, K. J.; HOGAN, J.S.; Short Communication: Environmental mastitis pathogen counts in freestalls bedded with composted and fresh recycled manure solids. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p.1501–1505, 2016.
- DAMASCENO, F. A., ALVES, F., et al. Compost barn como uma alternativa para a pecuária leiteira. **Gulliver**, 2020.
- ECKELKAMP, E.A., TARABA, J.L., AKERS, K.A., HARMON, R.J. e BEWLEY, J.M. Sand bedded freestall and compost bedded pack effects on cow hygiene, locomotion, and mastitis indicators. **Department of Biosystems and Agricultural Engineering**, University of Kentucky, Lexington, Elsevier, 2016.
- FRÉCHETTE, A.; FECTEAU, C.; COTE, S.; DUFOUR, S. Association between recycled manure solids bedding and subclinical mastitis incidence: A Canadian cohort study. **Frontiers in Veterinary Science**. v.9, p. 859-. 2022.
- HOGAN, J. S.; BOGACZ, V. L.; THOMPSON, L. M.; ROMIG, S.; SCHOENBERGER, P. S.; WEISS, W. P.; SMITH, K. L. Bacterial counts associated with sawdust and recycled manure bedding treated with commercial conditioners. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.8, p.1690–1695, 1999.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Trimestral do Leite: resultados completos**. Rio de Janeiro: IBGE, 2025. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9209-pesquisa-trimestral-do-leite.html?edicao=43627&t=resultados>. Acesso em: 3 set. 2025.
- JAMBOR, T.; KOVACIKOVA, E.; KOVACIK, A.; DROTAR, Z. BIREŠ, J. Verification of efficiencies of Hygienic Separator, and Bacteriological Evaluation of Recycled Manure Material used as Bedding for Dairy Cows. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v.13, p. 01 – 06, 2023.
- LEACH, K. A.; ARCHER, S. C.; BREEN, J. E.; GREEN, M. J.; OHNSTAD, I. C.; TUER, S.; BRADLEY, A. J. Recycling manure as cow bedding: Potential benefits and risks for UK dairy farms. **The Veterinary Journal**, v. 206, p. 123–130, 2015.
- LOMBARD, J. E.; TUCKER, C. B.; KEYSERLINGK, M. A. G. von; KOPRAL, C. A.; WEARY, D. M. Associations between cow hygiene, hock injuries and free stall usage on US dairy farms. **Journal Dairy Science**. V. 93, N. 10, p. 4668-4676, 2010
- LUZ, R. B. da; FADEL, R.; ROCHA, L. F. F. e da; PENTEADO, A., A.; DOPKOSKI, T. Parâmetros do leite cru entregue a uma usina beneficiadora do município de Castro-PR. **Scientia Rural**, Castro, v. 27, n. 1, p. 50-63, 2023. Disponível em: <https://phantomstudio.com.br/index.php/ScientiaRural/article/view/2662/pdf>. Acesso em: 3 set. 2025.
- OLIVEIRA, C.A. de; ALVES, E. R.; ALMEIDA, T.F. de; BARBOSA, R. M. Mudanças espaciais na produção de leite no Brasil. In: **Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e sociologia Rural**; 60., 2022, Brasília, DF: Embrapa, 2022. p. 1-4. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1167338/1/Mudancas-espaciais-na-producao-de-leite-no-Brasil.pdf>. Acesso em: 3 set. 2025.

CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DO ESTERCO RECICLADO E DA SERRAGEM EM DIFERENTES COMBINAÇÕES COMO CAMA PARA VACAS EM CONFINAMENTO TIPO FREE STALL

2.1 INTRODUÇÃO

Nos sistemas intensivos de produção de bovinos leiteiros geram grande quantidade de resíduos que precisam ser devidamente manejados para reduzir os riscos com contaminação ambiental (BLEY JÚNIOR et al., 2009). Portanto, devido à grande produção de dejetos em propriedades leiteiras que utilizam o sistema *free stall* e em função da preocupação ambiental com o destino destes dejetos, foi desenvolvida uma tecnologia para o aproveitamento desse resíduo como cama. Trata-se de um equipamento, conhecido como separador de sólidos que, por meio de ação mecânica, remove parcialmente a água dos dejetos de vacas leiteiras. O produto resultante da prensagem recebe várias denominações: esterco sólido (ES), esterco semi desidratado (ESD) ou esterco reciclado (ER).

Este resíduo vem sendo utilizado como fertilizante em áreas de lavouras, e mais recentemente na região, como cama nos sistemas de confinamento tipo *Free stall*. O reaproveitamento deste material é um ponto importante para os produtores, visto que, se usado de maneira correta, pode reduzir os investimentos com instalações exigidas para armazenar os dejetos, além do custo adicional das camas de serragem. Esta por sua vez, proporciona conforto aos animais, sendo muito utilizada por produtores de leite da região. Entretanto, por ser um material orgânico, aumenta os riscos de contaminação microbiana no úbere. Outro fator crítico no uso da serragem como cama está em seu custo elevado, devido principalmente à alta procura pela necessidade constante de reposição, (Radavelli, 2018). Além disso, a oferta deste material é escassa em determinados períodos do ano, causando aumento no custo.

Existem poucos estudos no Brasil avaliando o uso de ER como camas em sistema *free stall*, considerando sua eficácia, modo de utilização e segurança ambiental. Um dos fatores que deve ser considerado com o uso do ER é a saúde da glândula mamária. Em um estudo realizado nos Estados Unidos com o uso de esterco reciclado no confinamento de vacas leiteiras, os autores demonstraram que a contagem bacteriana do leite do tanque com o uso de ER como cama foi maior do que em propriedades que utilizam outros tipos de cama (Godden *et al.*, 2019).

O ER vem sendo cada vez mais utilizado nas propriedades, porém, existem poucos estudos em relação às recomendações de uso, ao tempo de compostagem, a aplicação e a quantidade de cal virgem e/ou hidratada para reduzir a umidade e a contaminação, a relação custo/benefício, entre outros. Portanto, as propriedades que utilizam o ER diferem muito em

relação ao manejo: algumas recolhem o ER e já distribuem nas camas das vacas; outras armazenam ao ar livre durante um período (compostagem) e, posteriormente, distribuem nas camas. Devido à importância econômica do ER, como cama para vacas leiteiras em sistemas *free stall* e à falta de pesquisas que validem o uso seguro nas propriedades, o objetivo deste trabalho foi avaliar as características microbiológicas e de composição da serragem, do ER e suas combinações, com ou sem a adição de óxido de Ca (cal virgem).

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Descrição do local

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética e Uso de Animais – CEUA (nº do protocolo 24.000022447-4) da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). O estudo foi realizado em uma propriedade localizada no município de Castro-Pr, (24°44'55''S, 49°53'38''W) com altitude de 1.016 metros. De acordo com o Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR) e o Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR), Castro-PR possui uma precipitação anual de 1.400 a 1.600 mm, sendo de 500 a 600 mm no verão, e 200 a 300 mm no inverno. A temperatura média anual varia de 17 a 18 °C, sendo a temperatura mínima média de 12 a 13 °C e a temperatura média máxima de 21 a 22 °C.

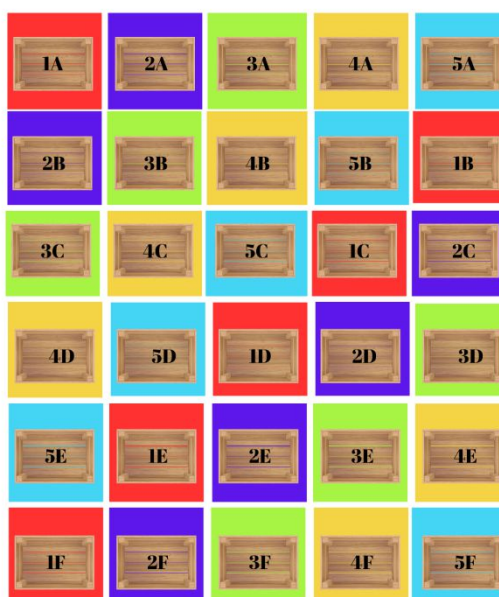
2.2.2 Descrição do experimento

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema de parcela subdividida no tempo, com cinco tipos de cama (tratamentos) e cinco tempos de avaliação. Os tratamentos avaliados foram: a) serragem; b) esterco reciclado (ER) + serragem sem óxido de Ca (cal virgem); c) ER + serragem com óxido de Ca; d) ER sem óxido de Ca; e) ER com óxido de Ca, sendo seis repetições por tratamento. O óxido de Ca (cal virgem) foi adicionado e misturado às camas tratadas com este composto, previamente ao início do experimento, na proporção de 13 kg de óxido de Ca/m³ de ER.

O período experimental teve duração de 30 dias (3 de março a 4 de abril de 2024). Os tratamentos foram distribuídos dentro de caixas de madeira, denominadas de mini-camas, com dimensões de 70 cm de largura x 70 cm de comprimento x 50 cm de altura (Figura 1), que simularam as camas de um free stall. Foram utilizadas seis mini camas (repetições) por tratamento, totalizando 30 minis camas, alocadas em um galpão pré-moldado coberto (Figura 2), com 9 m de pé-direito, com chão batido. As camas foram dispostas em sobre *palets* para evitar umidade. As camas foram pesadas em balança de precisão e armazenadas nas minis

camas, caixas de madeira. Previamente ao início do experimento colheu-se uma amostra de 100 gramas de cada cama (controle).

Figura 2.1: Disposição dos tratamentos (camas) no local do experimento: 1 (vermelho): Serragem; 2 (roxo): Serragem+ esterco reciclado sem cal; 3 (verde): Serragem+ esterco reciclado com cal; 4 (amarelo): Esterco reciclado sem cal; 5 (azul claro): Esterco reciclado com cal. As letras A, B, C, D, E e F correspondem às repetições.



Fonte: a autora.

O esterco (fezes e urina) foi obtido de um sistema de confinamento *Free stall*, sendo processado pelo separador de sólidos, para a obtenção do ER. O equipamento utilizado, denominado de Separador de composto orgânico (Paranatrator, marca *BENPAR*), apresenta uma estrutura em aço carbono galvanizado. Após a remoção parcial da umidade, o ER foi recolhido e armazenado em um local coberto durante três dias, para então ser utilizado no experimento.

O ER foi distribuído em um galpão coberto, em duas leiras. Em uma delas foi aplicado cal virgem e a outra não houve aplicação de cal virgem. A mistura da cal no tratamento correspondente foi realizada manualmente, com o auxílio de uma enxada, embora na propriedade esse processo seja realizado com uma carreta misturadora.

Durante o experimento foi realizada a reposição semanal do material nas mini-camas, simulando o manejo adotado na propriedade. Anteriormente a cada reposição, foram realizadas as coletas das amostras para análises laboratoriais. Realizou-se a aplicação de cal hidratada nas mini-camas, sendo adicionadas em todos os tratamentos. Este procedimento também teve como

propósito simular o manejo realizado pelos produtores, visando prevenir a incidência de mastite.

Figura 2.2– Disposição dos tratamentos (mini camas) no local do experimento, galpão de alvenaria, aberto nas laterais e momento da pesagem do material para colocação nas caixas.



Fonte: a autora.

O processo de obtenção do ER ocorreu por meio de prensagem mecânica do esterco líquido, por dois rolos compactadores revestidos com borracha de alta resistência. A bomba de sucção apresenta um rotor aberto, em aço inox (Figura 3).

Figura 2.3- Produção do Esterco reciclado por meio do equipamento Separador de Sólidos.



Fonte: a autora.

Amostras das camas foram coletadas no período da manhã, em cinco pontos aleatórios de cada caixa, nos seguintes tempos: 0 (controle), 8, 15, 22 e 29 dias de experimento.

Semanalmente, foram realizadas reposições das camas em suas respectivas minis camas, por meio da pesagem das camas em balança digital. Procedeu-se também a aplicação de hidróxido de Ca (cal hidratada) em todos os tratamentos, três vezes por semana, na proporção de 70 g/caixa. Tanto a reposição das camas como a aplicação de cal hidratada foram realizadas com o propósito de simular o manejo das camas realizado pelos produtores com vacas em confinamento. Da mesma forma, as amostras de cada caixa foram revolvidas 1 ou 2 vezes ao dia, simulando o revolvimento realizado nas propriedades, utilizando-se um garfo de jardinagem. A temperatura da cama foi analisada utilizando-se um termômetro tipo espeto, nos mesmos tempos da coleta de amostras.

2.2.3 Análises laboratoriais

As amostras das camas foram identificadas por tratamento e data de colheita e transportadas em caixas isotérmicas até o laboratório de Nutrição Animal da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) e congeladas a -5 °C. Ao final do experimento as amostras foram descongeladas para as análises dos teores de matéria seca (MS), carbono (C), Nitrogênio (N) e pH. As análises de C e N foram realizadas no laboratório de Nutrição de Plantas, do departamento de Solos da UEPG. O pH foi analisado por meio de um potenciômetro digital, de acordo com a metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002).

Ao final do experimento, as amostras armazenadas em freezer foram descongeladas, pesadas e colocadas em bandejas de alumínio para análise dos teores de MS. As amostras foram transferidas para estufa de ventilação forçada a 65 °C durante 72 horas de acordo com Silva e Queiroz (2002). Após esse período, as amostras foram pesadas para a determinação da matéria seca original. As amostras foram moídas em peneiras com crivos de 2 mm para posterior análise da composição química. Para a determinação do carbono, pesou-se 0,5 g de amostras em um filtro e transferido para um Becker. Realizou-se a titulação com Sulfato Ferroso 1N, de acordo com metodologia descrita por Kiehl (1985). Para a análise do teor de nitrogênio, realizou-se as etapas de digestão, destilação e titulação, pelo método de Kjeldahl (AOAC,2016).

As análises de cultura microbiana e de CPP foram realizadas no laboratório LabVet, localizado em Carambeí-PR. As amostras das camas foram transportadas imediatamente após a coleta, em caixas isotérmicas com gelo. As análises de CPP foram realizadas nos seguintes tempos: 0 (antes do início do experimento), 5º dia, 10º dia 20º dia e 30º dia do experimento.

Para a cultura microbiológica, as amostras das camas foram coletadas no período da manhã, nos seguintes tempos: dia 0 (antes do início do experimento) e no 30º dia do experimento. Foram colhidas amostras de 5 pontos de cada caixa com o uso de um amostrador

(calador) previamente higienizado com álcool. As amostras foram homogeneizadas e retirada uma amostra composta, sendo armazenados em frascos estéreis. Para o transporte até o laboratório, as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo.

No laboratório foram pesados 2,5 g de cada amostra e transferidas para um saco plástico estéril, sendo diluído em 225 mL de água deionizada e homogeneizada. Utilizou-se meios de cultura específicos para identificação dos micro-organismos em meio de cultura *Plate Count Ágar* (PCA). As placas foram incubadas em estufas B.O.D, na temperatura de 36 °C. As leituras visuais das placas para a identificação dos microrganismos, após 48 horas de incubação.

2.2.4 Análise estatística

Os dados foram testados para normalidade e homogeneidade de variâncias. Foi utilizada a análise de variâncias e em caso de significância foi utilizado o teste de Tukey para comparação dos tratamentos e análise de regressão para a comparação dos tempos de amostragem. Para a análise estatística dos dados de CPP e CCS, bem como para as variáveis em que não houve normalidade ou homogeneidade de variâncias, os valores foram transformados para a escala logarítmica ($\log 10$). Utilizou-se o programa estatístico R, com o nível de 5% de significância.

Em relação às análises microbiológicas das camas, foram calculadas as frequências relativas, em percentagem, de cada microrganismo identificado nas amostras das camas analisadas.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito de interação ($P < 0,05$) entre o tipo de cama e o tempo de amostragem da cama (Tabela 2.1). Observou-se diferença ($P < 0,05$) dos teores de MS entre os tratamentos, dentro de cada tempo de amostragem. As camas com serragem tiveram maiores teores de MS em relação às camas com ER. Ao longo do tempo de amostragem, verificou-se aumento linear dos teores de MS em todos os tipos de cama, exceto nas camas com serragem + ER sem cal, que apresentou efeito quadrático, com maior teor de MS aos 23 dias.

Tabela 2.1: Teores médios de matéria seca (MS), em %, das camas avaliadas em função do dia de amostragem e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C) dos teores de MS

Tipo de cama	Dia					L	Q	C
	0	8	15	22	29			
Serragem	55,29a	71,52a	76,60a	77,26a	79,49 ^a	*		
Serragem+ ER sc	39,57bc	62,38b	66,65bc	75,30ab	74,02ab		*	
Serragem+ER cc	43,89b	63,69b	72,65ab	73,63ab	80,13 ^a	*		
ER sc	28,61d	48,09c	53,48d	59,21c	71,55b	*		
ER cc	36,29c	51,44c	60,33cd	69,46b	74,75ab	*		

ER: esterco reciclado. Sc: sem cal virgem (óxido de Ca). Cc: com cal virgem (óxido de Ca). Letras diferentes na mesma coluna, diferem ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. CV: coeficiente de variação. CV Tipo de cama = 6,71 %; CV Tempo = 7,15 %. Serragem: $Y = 60,49 + 0,79x$; $R^2: 0,79$; Serragem+ ER sc: $Y = 40,38 + 2,80x - 0,06x^2$ ($P_{\text{máx}} \sim 23$ dias; $R^2 = 0,86$); Serragem+ER cc: $Y = 48,57 + 1,22x$; $R^2: 0,90$; ER sc: $Y = 31,88 + 1,39x$; $R^2 = 0,95$; ER cc: $Y = 38,13 + 1,42x$; $R^2: 0,99$.

Ao longo do tempo de compostagem ocorre a fermentação microbiana do material da cama, elevando a temperatura até alcançar a estabilidade. De acordo com Damasceno (2020), a compostagem gera calor e nesse processo é liberado dióxido de carbono e água, resultantes de um processo oxidativo gerado pelos microrganismos presentes no material. Desta forma, quanto maior o teor de MS da cama, melhor é a sua qualidade, reduzindo o risco de aderir no úbere e, conseqüentemente, reduzir a incidência de mastite quando a vaca estiver deitada.

No estudo realizado por Reich *et al.* (2010), foi analisado o comportamento dos animais sob diferentes níveis de MS da cama. Os autores observaram que as vacas permaneceram mais tempo deitadas em camas com diferentes teores de MS (90%), comparado às camas com menor teor de MS (35%), o que indica que quanto maior a MS, melhor o bem-estar animal. Da mesma forma, Fregonesi *et al.* (2007) analisaram o comportamento de vacas em lactação mantidas em camas com teores de MS de 26% e 86%, e verificaram que os animais tiveram preferência pelas camas com menor teor de umidade. Também Andrade *et al.* (2022) observaram que as vacas preferem um ambiente seco e confortável e produzem mais leite nessa condição, podendo permanecer cerca de dez a 14 horas deitadas.

No presente experimento, mesmo com a remoção parcial da umidade durante o processo de separação do esterco sólido pelo separador, o esterco reciclado apresenta maior teor de umidade em relação à serragem. Ainda quando se comparou os tratamentos com cal virgem e sem cal virgem, verificou-se que as camas com cal apresentaram maiores teores de MS. O teor de MS médio das camas com esterco reciclável (com ou sem cal) foi de 32% no início do experimento, e após 30 dias, o teor de MS médio aumentou para 72,5%. Assim, nota-se que a remoção de água do esterco pelo separador de sólidos é baixa, sendo necessário aumentar o

tempo de compostagem deste material antes de ser utilizado como cama. Também, de modo geral, a inclusão de cal no esterco reciclável aumentou o teor de MS, evidenciando sua importância na desidratação do material. Essa prática é adotada pelos produtores de leite, que adicionam a cal virgem no momento da retirada do esterco reciclado do separador.

Em sistemas de confinamento *free stall* é comum o uso diário de cal hidratada nas camas para controlar a umidade, o que também causa aumento do pH e limita a atividade microbiana, segundo Damasceno (2020). Em um estudo realizado por Kristula *et al.* (2008), testando tratamentos para diminuição de microrganismos nas camas de colchão de borracha ou espuma para vacas em confinamento, os autores verificaram que a cal hidratada foi a única que apresentou resultados significativos, diminuindo a contagem bacteriana de *Klebsiella spp.* Hogan *et al.* (1999) observaram resultado positivo na diminuição de contagem bacteriana quando utilizaram a cal com a serragem e com o esterco reciclado. No entanto, dependendo da quantidade utilizada, a cal pode causar irritação no úbere.

No presente estudo, a CPP foi influenciada pelo tempo de compostagem e tipo de (Tabela 2.2), como indicado pelo efeito significativo de interação dos tratamentos ($P=...$). Em todos os tempos, a serragem apresentou menor CPP em relação aos outros tipos de cama, exceto no 10º dia, em que não houve diferença ($p>0,05$). Este resultado confirma a maior contaminação microbiana do esterco em função de sua composição (fezes e urina) e teor de umidade. No entanto, a compostagem durante 20 e 30 dias reduziu drasticamente a contaminação microbiana das camas com esterco reciclado, de 290.000 UFC/g no dia 0 para 25.291 UFC/g no 30º dia de compostagem, mostrando a importância deste período na melhoria da qualidade da cama.

Tabela 2.2: Médias de CPP (x1.000 UFC/g) dos tipos de cama, em função do tempo de amostragem e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C)

Tipo de cama	Dia					L	Q	C
	0	3	10	20	30			
Serragem	576b	22.500d	33.666a	8.600b	7.633b		*	
Serragem+ ER sc	306.000a	127.666c	51.166a	50.666a	16.920ab	*		
Serragem+ER cc	296.000a	330.000ab	53.500a	41.166a	18.466a	*		
ER sc	260.833 ^a	176.800bc	41.200a	52.000a	27.520a	*		
ER cc	319.166 ^a	391.666a	54.333a	54.400a	23.333a	*		

Para a análise de CPP os dados foram transformados em logaritmo na base 10. ER: esterco reciclado. Sc: sem cal virgem (óxido de Ca). Cc: com cal virgem (óxido de Ca). Letras diferentes na mesma coluna, diferem ($p<0,05$) pelo teste de Tukey. CV: coeficiente de variação. CV Tipo de cama= 2,80 %; CV Tempo= 2,79 %. Serragem: $Y=6,33+0,138x-0,0044x^2$, $P_{max} \sim 16^\circ$ dia $R^2=0,15$; Serragem+ ER sc: $Y=8,244-0,036x$; $R^2=0,83$; Serragem+ER cc: $Y=8,429-0,04x$; $R^2=0,18$; ER sc: $Y=8,2550-0,0292x$; $R^2=0,08$; ER cc: $Y=8,453-0,041x$, $R^2=0,33$.

Houve redução linear decrescente ($P<0,05$) da CPP em função do tempo de compostagem nos tratamentos serragem+ER sc, serragem+ER cc, ER sc e ER cc. Verificou-se baixos valores dos coeficientes de determinação das equações de regressão. Isso provavelmente ocorreu devido à alta variação nos valores de CPP das camas, por se tratar de um material em contínua e intensa fermentação microbiana, além das reposições semanais de cama que foram realizadas para simular o manejo diário utilizado nas fazendas leiteiras. Esta variação também pode ter ocorrido em função de as amostragens não apresentarem intervalos ortogonais. A definição dos dias de amostragem para este experimento foi realizada em função do manejo dos produtores que utilizam o esterco reciclado, onde a maioria armazena o esterco durante apenas 3 ou 9 dias para então utilizá-lo como cama.

Estes resultados demonstram a importância da compostagem sobre a melhoria da qualidade da cama, havendo redução e estabilização da contaminação microbiana. De acordo com Damasceno *et al.* (2020), as concentrações médias de bactérias nas camas de propriedades leiteiras nos Estados Unidos e no Brasil, com camas de ER são cerca de 158×10^6 e de 501×10^6 UFC/g, respectivamente. Portanto, os valores de CCP obtidos neste trabalho a partir do 10º dia de compostagem, estão muito abaixo dos valores médios de CPP supracitados.

Observa-se que a CPP inicial da serragem foi inferior ($P<0,05$) aos demais tratamentos com ER, porém, a CPP aumentou em função do tempo, sendo contrário aos demais tratamentos, que apresentaram redução na CPP com o aumento do tempo de compostagem. Sendo assim, os resultados deste trabalho demonstram a necessidade de manter o esterco reciclado tratado em compostagem durante um período não inferior a 10 dias, deixando o material armazenado para posterior uso como camas, pois isso irá reduzir significativamente sua contaminação, prevenindo novos casos de mastite. No entanto, este manejo pode não ser viável para alguns produtores, devido à alta demanda diária de reposição de cama dentro da propriedade.

Houve efeito de interação ($P<0,05$) entre o tipo de cama e o tempo de amostragem da cama em relação ao pH (Tabela 2.3). Nos tempos de amostragem de 0 e 8 dias, a serragem apresentou menor pH em relação aos outros tipos de cama, com média de 6,92. O tempo de amostragem não causou variações de pH das camas de Serragem +ER (sem cal) e ER (com e sem cal).

Tabela 2.3: Médias de pH dos diferentes tipos de cama, em função do tempo de amostragem, em dias níveis médios descritivos de probabilidade e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C)

Tipo de cama	Dia					L	Q	C
	0	8	15	22	29			
Serragem	6,92b	6,92b	9,14a	9,30a	9,27a	*		
Serragem+ ER sc	9,45 ^a	9,60a	9,57a	9,82a	9,61a		*	
Serragem+ ER cc	9,54 ^a	9,57a	9,82a	9,86a	9,82a	ns	Ns	Ns
ER sc	9,68 ^a	9,69a	9,69a	9,89a	9,79a	ns	Ns	Ns
ER cc	9,62 ^a	9,70a	9,79a	9,92a	9,93a	ns	Ns	Ns

Para a análise de pH os dados foram transformados em logaritmo na base 10. ER: esterco reciclado. Sc: sem cal virgem (óxido de Ca). Cc: com cal virgem (óxido de Ca). NS: não significativo. Letras diferentes na mesma coluna, diferem ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. CV: coeficiente de variação, CV tipo de cama = 5,13 %; CV Tempo = 3,25 %. Serragem: $Y = 0,8189 + 0,0062x$. $R^2 = 0,81$; Serragem+ ER sc: $Y = 0,9749 + 0,0010 - 0,00002X^2$ ($P_{max} = 25$ dias); $R^2 = 0,0003$. ns: não significativo.

O pH da serragem apresentou comportamento linear crescente ($P < 0,05$) em função do tempo de compostagem. Para Serragem + ER sc, o pH teve comportamento quadrático, com ponto de máximo no 23º dia de compostagem.

O pH foi a variável que apresentou menor variação em função do tempo de amostragem e dos tipos de cama, com valor médio de 9,82. De acordo com Piovesan e Oliveira (2020), o pH ideal de materiais em compostagem para o crescimento de microrganismos está entre 5,5 e 8,5. Valores superiores a 8 inativam grande parte das enzimas dos microrganismos patogênicos. No presente trabalho, os valores de pH das camas de serragem + esterco (com e sem cal) e Esterco reciclado (com e sem cal) foram superiores a 8,5. Além disso, a adição de cal não alterou o pH das camas. Damasceno (2020) relatou que a adição de cal nas camas é uma forma de controlar a o teor de umidade, que ocasionalmente alcaliniza o material, limitando a atividade microbiana.

Houve interação entre o tempo de amostragem e os tratamentos em relação à temperatura das minis camas ($P > 0,05$) (Tabela 2.4). Houve diferença nas temperaturas das camas entre os tratamentos apenas nos tempos 0 e 6 dias de compostagem ($P < 0,05$). Após esse período, as temperaturas das camas foram semelhantes ($P > 0,05$).

Tabela 2.4: Valores médios da temperatura das minis camas dos diferentes tipos de cama, em função do tempo de amostragem, e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C)

Tipo de cama	Dia				L	Q	C
	0	6	14	29			
Serragem	24,50c	21,66c	22,00	20,30	*		
Serragem+ ER sc	25,83bc	22,50bc	22,66	21,00	*		
Serragem+ER cc	25,66c	22,50bc	22,83	21,16	*		
ER sc	28,00ab	24,33a	23,33	21,33	*		
ER cc	27,50 ^a	23,50ab	22,83	20,83	*		

ER: esterco reciclado. Sc: sem cal virgem (óxido de Ca). Cc: com cal virgem (óxido de Ca). Letras diferentes na mesma linha, diferem ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. CV tratamento = 6,11. %CV tempo = 3,87%; Serragem: $Y = 23,661 - 0,124x$ $R^2 = 0,74$; Serragem+ ER sc: $Y = 24,73 - 0,144x$, $R^2 = 0,74$; Serragem+ER cc: $Y = 24,64 - 0,133x$, $R^2 = 0,72$; ER sc: $Y = 26,813 - 0,213x$, $R^2 = 0,85$; ER cc: $Y = 26,175 - 0,209x$, $R^2 = 0,82$

No 6º dia de compostagem, as temperaturas das camas com ER sc e ER cc foram maiores ($P < 0,05$) em relação à cama com apenas serragem. Ainda, todos os tipos de cama apresentaram redução linear ($p < 0,05$) da temperatura em função do tempo de compostagem. As temperaturas das camas do presente trabalho foram baixas considerando um processo de compostagem. De acordo com Damasceno (2020), a faixa de temperatura ideal para camas de compost barn está entre 45°C e 55°C. Já Bewley *et al* (2017) consideram valores de 44°C a 65°C. Entretanto, Black *et al* (2013) encontraram valor médio mais próximo ao do presente estudo (36 °C a 20 cm de profundidade), porém, ainda superiores. No entanto, mesmo sob baixas temperaturas, verificou-se, por meio dos valores de CPP, que houve fermentação microbiana ao longo dos 30 dias de experimento.

Quando as temperaturas não superam os 45 °C, de acordo com Damasceno (2020), o processo de decomposição torna-se mais lento, impossibilitando ou dificultando a eliminação de patógenos. No presente estudo, apesar de as camas sofrerem essa compostagem naturalmente, os tratamentos foram avaliados em mini camas, simulando o que ocorre em camas tipo *Free stall*. Adicionalmente, deve-se levar em consideração que as minis camas, por serem de madeira de baixa espessura, provavelmente eliminaram calor mais rapidamente do que as camas de *free stall*. De acordo com Black *et al.* (2014), quando as temperaturas não atingem 65 °C em uma compostagem, não ocorre a morte de microrganismos que podem causar a mastite, como *Bacillus sp*, *Streptococcus sp*, e *Staphylococcus spp*.

Houve interação ($P>0,05$) entre os tratamentos e o tempo de amostragem em relação aos teores de carbono das camas (Tabela 2.5). De modo geral, os teores de C foram menores nos tratamentos com esterco. Por outro lado, a cama de serragem não sofreu variações nos teores de C em função dos tempos de amostragem.

Tabela 2.5: Médias dos teores de Carbono (C), em %, dos diferentes tipos de cama, em função do tempo de amostragem, em dias, e níveis médios descritivos de probabilidade e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C)

Tipo de cama	Dia					L	Q
	0	8	15	22	29		
Serragem	24,02a	23,76a	24,02a	24,02a	24,04a	ns	ns
Serragem+ ER sc	24,02a	23,61ab	23,91a	24,02a	24,04a		*
Serragem+ER cc	23,45a	21,21b	22,64a	20,73b	21,01b	*	
ER sc	19,92b	21,69ab	22,50a	22,40ab	22,81ab	*	
ER cc	19,34b	17,91c	16,56b	14,94c	15,48c	*	

ER: esterco reciclado. sc: sem cal virgem (óxido de Ca). cc: com cal virgem (óxido de Ca). Letras diferentes na mesma coluna, diferem ($p<0,05$) pelo teste de Tukey. CV tipo de cama= 8,12 %; CV tempo = 6,67 %. NS: não significativo; Serragem+ ER sc: $Y = 23,94 - 0,023x + 0,001x^2$ ($P_{min} \sim 12$ dias); $R^2=0,003$; Serragem+ER cc: $Y = 22,95 - 0,0780x$ $R^2=0,53$; ER sc: $Y = 20,49 + 0,094x$ $R^2=0,81$; ER cc: $Y = 19,12 - 0,153x$ $R^2=0,90$.

O teor de carbono indica a quantidade de energia que os microrganismos utilizam para a degradação do material (Damasceno, 2020). O maior teor de C da serragem está relacionado com o maior teor de lignina quando comparada ao ER.

Apesar do comportamento quadrático da cama com serragem+ER sc e linear das camas com Serragem + ER cc, ER sc e ERcc, a variação dos teores de C foi pequena. As camas com somente serragem não apresentaram variações no teor de carbono ($P>0,05$).

Em um estudo realizado por Favero *et al.*, (2015), os autores demonstraram que a porcentagem de carbono encontrado nas camas de confinamento de três propriedades leiteiras em sistema de compost barn, variaram de 17,5 e 23,3%. O carbono é um fator limitante para o crescimento bacteriano, visto que o nitrogênio é constantemente repostado pelos animais, por meio de fezes e urina. Sendo assim, quanto mais velha a cama, maior o requerimento de carbono, pois é um elemento essencial para o crescimento bacteriano e sua disponibilidade influencia diretamente a atividade microbiana. Portanto, observa-se no presente trabalho, que a menor concentração de C aos 29 dias de compostagem na cama com ER cc, limitou a proliferação microbiana, sendo verificada pela menor CPP (Tabela 2.2). Ainda segundo os autores, o desequilíbrio entre carbono e nitrogênio pode afetar a compostagem do material,

sendo necessária a reposição de carbono à medida que o nitrogênio é depositado pelos animais por meio de suas excretas.

Nas análises dos teores de nitrogênio na cama, houve interação entre o tempo de amostragem e os tratamentos ($P>0,05$) (Tabela 2.6). Observou-se maior teor de nitrogênio nas camas com ER sc, na maioria dos tempos de amostragem. As camas de Serragem, Serragem+ER cc, ER sc e ER cc tiveram comportamento linear decrescente em função dos tempos de compostagem. Para cama Serragem + ER sc, observou-se comportamento foi quadrático dos níveis de N, com ponto de mínima aproximadamente no 17º dia. O nitrogênio é importante para a síntese de proteína microbiana, portanto, sua carência limita o crescimento de microrganismos responsáveis pela compostagem do material (Damasceno, 2020). De modo geral, as camas com ER sem cal apresentaram os maiores valores de N, indicando maior fermentação microbiana. Entretanto, a adição de cal nestas camas, de modo geral, reduziu o teor de N, sendo este resultado esperado, devido a ação da cal sobre os microrganismos.

Tabela 2.6: Médias dos teores de Nitrogênio (N), em %, dos diferentes tipos de cama, em função do tempo de amostragem, em dias, e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C)

Tipo de cama	Dia					L	Q	C
	0	8	15	22	29			
Serragem	0,09c	0,09d	0,17c	0,77d	0,13c	*		
Serragem+ ER sc	1,36b	0,74c	0,86b	1,37b	0,87b		*	
Serragem+ER cc	1,22b	1,18bc	0,61b	0,65c	0,53b	*		
ER sc	3,98 ^a	2,43a	2,32 ^a	3,15a	1,70a	*		
ER cc	2,28 ^a	1,81b	2,56 ^a	1,06bc	0,65ab	*		

Para a análise de N os dados foram transformados em logaritmo na base 10ER: esterco reciclado. Sc: sem cal virgem (óxido de Ca). Cc: com cal virgem (óxido de Ca). Letras diferentes na mesma coluna, diferem ($p<0,05$) pelo teste de Tukey. CV tipo de cama = 14,32 %; CV tempo = 5,65%; Serragem: $Y=0,5838+0,0024x$ $R^2=0,31$; Serragem+ ER sc: $Y=1,047-0,0067+0,0002x^2$; (Pmín ~17 dias). $R^2: 0,068$; Serragem+ER cc: $Y=1,042-0,0063x$ $R^2=0,39$; ER sc: $Y=1,316-0,0058x$ $R^2: 0,56$; ER cc: $Y=1,2382-0,0089x$ $R^2:0,12$.

Em um estudo analisando os resultados de várias pesquisas, Leso *et al.* (2020) verificaram que o intervalo de N indicado para a realização de uma boa compostagem do material em propriedades leiteiras com confinamento em *Compost barn*, é de 1% a 3,6%. Observa-se no presente trabalho que as camas com ER, com ou sem cal, apresentaram valores de N dentro do intervalo recomendado para uma boa compostagem. A redução dos teores de N nestas camas no 29º dia de compostagem indica a utilização deste elemento pelos

microrganismos, havendo estabilização da fermentação microbiana. Por outro lado, as camas com serragem apresentaram baixos teores de N. Em sua composição, a serragem contém alto teor de C, baixo teor de N (Maragno, *et al.*, 2007) e alto teor de MS. Neste sentido, em sistemas de confinamento tipo *free stall*, ao se utilizar um material com maior teor de umidade e N como o esterco reciclado, a compostagem desta cama é necessária para garantir a redução de microrganismos patogênicos e, conseqüentemente, a diminuição dos riscos de mastite nos animais.

Nos tratamentos contendo serragem e esterco, no estudo de Leso *et al.* (2020), os autores verificaram pequeno aumento do teor de nitrogênio em comparação ao tratamento com somente serragem. Já os tratamentos com esterco tiveram teores de N satisfatórios para uma boa compostagem, exceto no último dia de avaliação, onde o tratamento com cal apresentou teores inferiores a 1% de N.

Houve interação entre o tempo de amostragem e os tratamentos na razão C/N ($P>0,05$) (Tabela 2.7). Verificou-se que o tratamento com serragem teve a maior razão C/N comparado aos demais. Já o tratamento com ER sc apresentou as menores razão C/N.

Tabela 2.7: Valores médios da razão C/N dos diferentes tipos de cama, em função do tempo de amostragem, e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C)

Tipo de cama	Dia					L	Q	C
	0	8	15	22	29			
Serragem	290,66 ^a	279,37 ^a	188,37 ^a	196,09 ^a	204,95 ^a	*		
Serragem+ ER sc	19,14 ^b	27,53 ^b	28,54 ^b	23,31 ^b	29,62 ^{cb}	*		
Serragem+ER cc	20,20 ^b	23,52 ^{bc}	37,43 ^b	32,18 ^{bc}	39,69 ^b	*		
ER sc	5,16 ^c	9,29 ^d	9,78 ^c	8,32 ^c	13,62 ^c	*		
ER cc	26,98 ^b	10,12 ^{dc}	10,00 ^c	14,48 ^{cb}	15,50 ^{cb}	*		

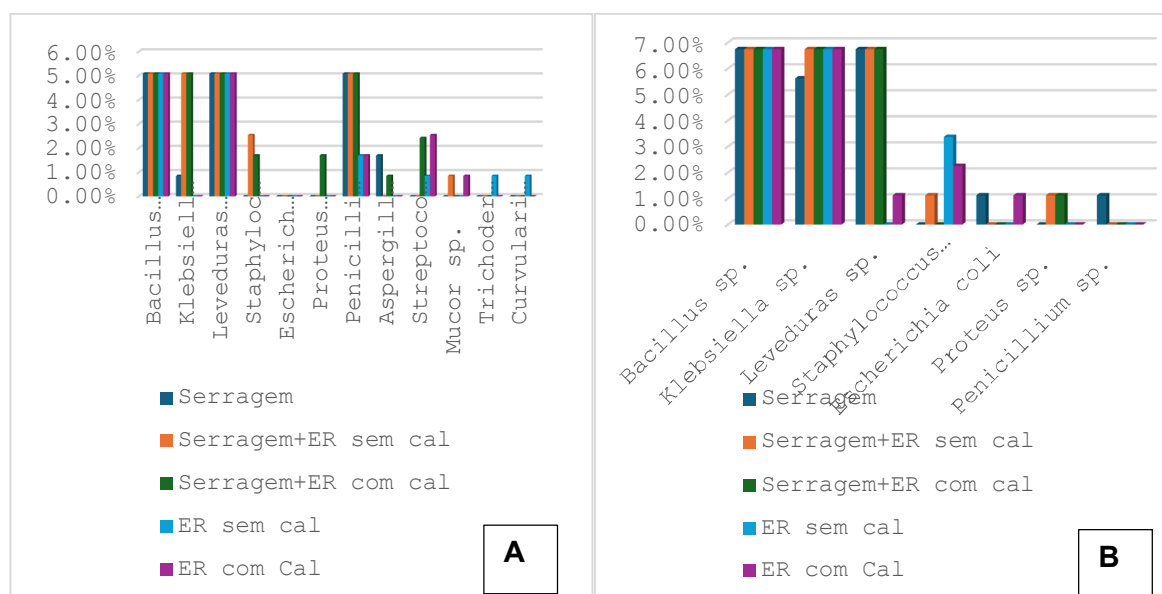
Para a análise de C/N os dados foram transformados em logaritmo na base 10. ER: esterco reciclado. Sc: sem cal virgem (óxido de Ca). Cc: com cal virgem (óxido de Ca). Letras diferentes na mesma coluna, diferem ($p<0,05$) pelo teste de Tukey. CV tratamento = 18,54 %; CV tempo = 8,88 %; Serragem = $Y = 0,289 - 0,0021X$ $R^2=0,40$; Serragem+ ERsc: $Y = 0,5130 - 0,0010x$ $R^2=0,04$; Serragem+ER cc: $Y = 0,5239 - 0,0028x$ $R^2=0,30$; ER sc: $Y = 0,6837 - 0,0039x$ $R^2=0,63$; ER cc: $Y = 0,6151 - 0,0018x$ $R^2=0,02$.

A razão C/N apresentou comportamento linear em função dos tempos de compostagem, em todos os tratamentos. A análise da razão C/N tem como objetivo avaliar a compostagem do material orgânico e o crescimento microbiológico (Damasceno, 2020). Para isso, há uma concentração ideal de C e de N que, de acordo com Andrade *et al.* (2020), é de 25:1 a 30:1, sendo que a quantidade de carbono necessária depende da quantidade de nitrogênio.

De acordo com Leso *et al.* (2020), a razão C/N das fezes dos animais está entre 15:1 e 19:1. Por outro lado, os materiais de origem vegetal utilizados na cama, como a serragem, possuem alta razão C/N, por volta de 400:1. Os valores encontrados no presente trabalho seguiram este comportamento, visto que nos tratamentos contendo serragem, a relação C:N foi mais alta comparada aos tratamentos com apenas ER. Os tratamentos ER + serragem sem cal e ER + serragem com cal apresentaram relações mais próximas do ideal (entre 25:1 a 30:1) para a realização da compostagem, pois seus valores variaram entre 19:1 a 39:1. Já nos outros tratamentos, como o esterco com e sem cal, a razão variou de 5:1 a 26:1; e na serragem, a razão ficou entre 188:1 a 290:1. Desta forma, verifica-se que, ao se utilizar o esterco reciclado como cama, a adição de serragem ao esterco melhora a razão C/N, contribuindo com a compostagem do material.

Na Figura 2.4 encontram-se as frequências relativas dos microrganismos identificados nas camas, no tempo 0 (A) e no tempo 30 (B) de amostragem. Verifica-se ao longo do tempo de compostagem que alguns microrganismos foram eliminados, como o *Aspergillus* sp, os *Streptococcus* sp, *Mucor* sp, *Trichoderma* sp e *Curvularia* sp. No entanto, patógenos mais prejudiciais à glândula mamária como a *Klebsiella* e o *Staphylococcus* permaneceram nas camas durante o experimento.

Figura 2.4: Frequência relativa (%) dos microrganismos nos diferentes tipos de cama avaliados em relação ao total de microrganismos identificados nos tratamentos, no tempo 0 (A) e no tempo 30 (B) de amostragem.



Fonte: a autora.

Observa-se que o *Bacillus sp.* e a *Klebsiella sp* foram os microrganismos encontrados em maior proporção em todos os tipos de camas aos 30 dias de compostagem, porém, nas camas com apenas serragem, o percentual deste patógeno foi menor. Já as *Leveduras sp.* estavam ausentes no tratamento ER sem cal e minimamente presente no ER com cal (1%).

Aos 30 dias de compostagem, a bactéria *Klebsiella* foi encontrada em maior percentual nas camas com serragem +ER sem e com cal e ER com e sem cal, e o *Staphylococcus* em maior percentual nas camas com serragem + ER sem cal e ER sem e com cal. Verificou-se que a adição de cal no esterco reduziu a proporção deste patógeno na cama. De modo geral, este microrganismo foi encontrado em maior proporção nas camas com ER sem cal e ER com cal. De acordo com Damasceno *et al.* (2020) este é um dos principais patógenos causadores de mastite. Cole e Hogan (2016) compararam o uso do ER fresco e do ER em compostagem durante quatro semanas, sendo mantido em leiras em sistema fechado, ambos utilizados como cama para vacas leiteiras em confinamento tipo *free stall*. Os autores observaram diminuição das bactérias gram-negativas, coliformes, *Streptococcus spp* e *Klebsiella spp* do esterco em compostagem em relação ao esterco fresco no dia zero, ou seja, antes do uso. Porém, segundo os autores, não houve diferença após o uso das camas na contagem bacteriana do esterco fresco e do esterco que sofreu compostagem.

A frequência relativa de *E. coli*, um patógeno ambiental, foi menor em relação aos *Bacillus*, *Klebsiella* e leveduras no 30º dia de experimento. A *E. coli* foi encontrado em maior proporção na cama com esterco reciclado com cal, e causa mastite clínica, porém, responde bem aos tratamentos intramamários com antimicrobianos.

Por outro lado, a bactéria *Proteus spp.* foi encontrada em maior proporção nas camas compostas de serragem + esterco, com e sem cal. Esta bactéria pode causara mastite ambiental, sendo encontrada especialmente nas camas de vacas confinadas. No entanto, as infecções por *Proteus* em animais domésticos são frequentemente mal diagnosticadas ou também podem ser classificadas como agentes contaminantes de amostras de leite, ao invés de um agente primário causador da mastite (TOMANIC et al., 2022).

2.4 CONCLUSÕES

O esterco reciclado usado como cama apresenta características favoráveis como baixa CPP e razão C/N satisfatória quando misturado com a serragem, mesmo sob condições de temperaturas mais baixas das camas, não propícias para a compostagem. No entanto, é preciso considerar um período de compostagem de pelo menos 10 dias antes de ser usado como cama, para haver redução da CPP. A adição de óxido de Ca (cal virgem) foi importante no controle

da umidade, tanto das camas com serragem e ER como das camas com apenas ER, sendo necessária para reduzir a aderência da cama no úbere das vacas e reduzir a contaminação microbiana. A presença de microrganismos causadores de mastite como a *Klebsciella*, o *Staphylococcus spp* e o *Proteus* foi maior nas camas com a adição de esterco reciclado, entretanto, este resultado pode variar em função de outros fatores como tempo de compostagem e uso ou não de cal nas camas.

REFERÊNCIAS

- AOAC – **Association of Official Analytical Chemists**, 20th Edition, AOAC Inc., Washington DC. 2016.
- ANDRADE, R. R.; SOUZA, C. F.; BAÊTA, F. C. Instalações para Bovinocultura Leiteira. **Revista Brasileira de Buiatria**, v. 3(1), p. 26-40, 2022.
- BEWLEY, J.M, ROBERTSON, L.M. & ECKELKAMP, E.A. 100-Year Review: Lactating dairy cattle housing management. **Journal of Dairy Science**, v.100(12), p.10418-10431, 2017.
- BLACK, R.A.; TARABA, J.L.; DAY, G.B.; DAMASCENO, F.A.; BEWLEY, J.M. Compost bedded pack dairy barn management, performance, and producer satisfaction. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 12, 8060-74, 2013.
- BLACK, R.A., TARABA, J.L., DAY, G.B., DAMASCENO, F.A., NEWMAN, M.C., AKERS, K.A., WOOD, C.L., MCQUERRY, K.J., BEWLEY, J.M., The relationship between compost bedded pack performance, management, and bacterial counts. **Journal of Dairy Science**, v.97, p.2669–2679, 2014.
- BLEY JUNIOR, C.; LIBÂNIO, J. C.; GALINKIN, M.; OLIVEIRA, M. M. **Agroenergia da Biomassa Residual: Perspectivas Energéticas, Socioeconômicas e Ambientais**. 2.ed, v. 22, p.01-140, 2009.
- COLE, K. J.; HOGAN, J.S.; Short Communication: Environmental mastitis pathogen counts in freestalls bedded with composted and fresh recycled manure solids. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p.1501–1505, 2016.
- DAMASCENO, F.A. Processo de Compostagem. F. A. (Coord.). **Compost Barn como alternativa para pecuária leiteira**. 1ed. Divinópolis: Adelante, cap. 9, p. 127-145, 2020.
- DAMASCENO, V.S.; SILVA, F.M.; SANTOS, H.C. de A.S. dos.; Análise do perfil microbiológico de agentes causadores de mastite bovina e sua relação com a qualidade do leite em uma fazenda do Sul de Minas Gerais. **Brazilian Journal of Development**, v.6., n.11, p. 91409-91421, 2020.
- EMBRAPA. Produção de leite na mesorregião Centro Oriental Paranaense. Castro: Embrapa Gado de Leite, 2023. 28 p. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 243). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1165155/1/Producao-de-leite-na-mesorregiao-centro-oriental-Paranaense.pdf>. Acesso em: 4 set. 2025.
- FÁVERO, Samuel. Fatores associados à qualidade do leite, higiene animal e concentração bacteriana na cama de vacas confinadas no sistema de compostagem, Tese Mestrado, Piracicaba, departamento de Zootecnia, USP/ESALQ, p. 117. 2015.

FAVERO, S.; PORTILHO, F. R.; OLIVEIRA, A. C. R.; LANGONI, H.; PANTOJA, J. C. F.; Longitudinal trends and Associations Between Compost Bedding Characteristics and Bedding Bacterial Concentrations. **Journal of Agricultural Science**, v.7, n.10, pg 220-230, 2015.

FRÉCHETTE, A.; FECTEAU, C.; COTE, S.; DUFOUR, S. Association between recycled manure solids bedding and subclinical mastitis incidence: A Canadian cohort study. **Frontiers in Veterinary Science**, v.9, p.1-8, 2022.

FREGONESI, J. A.; VEIRA, D. M.; KEYSERLINGK, M. A. G.; Effects of Bedding Quality on Lying Behavior of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.5468–5472, 2007.

HOGAN, J. S.; BOGACZ, V. L.; THOMPSON, L. M.; ROMIG, S.; SCHOENBERGER, P. S.; WEISS, W. P.; SMITH, K. L. Bacterial counts associated with sawdust and recycled manure bedding treated with commercial conditioners. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.8, p.1690–1695, 1999.

JANNI, K. A., M. I. ENDRES, J. K. RENEAU, AND W. W. SCHOPER. 2007. Compost dairy barn layout and management recommendations. **Applied Engineering in Agriculture**. v.23, n.1, p.01-97, 2007.

JEPPSSON, K.H.; MAGNUSSON, M.; NILSSON, S.B.; et al.; Comparisons of recycled manure solids and wood shavings/sawdust as bedding material: Implications for animal welfare, herd health, milk quality, and bedding costs in Swedish dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v.107, p.5779–5793, 2024.

KIEHL, E J. **Fertilizantes orgânicos**. São Paulo, Editora Agronômica: Ceres. 485p, 1985

KRISTULA, M.A.; DOU, Z.; TOTH, J. D.; SMITH, B. I.; HARVEY, N.; SABOT, M.; Evaluation of Free-Stall Mattress Bedding Treatments to Reduce Mastitis Bacterial Growth. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.1885–1892, 2008.

LEACH, K. A.; TUER, S.; GREEN, M.J.; BRADLEY, A.J. Separated Manure Solids as Bedding for Dairy Cows- A UK Farmer Survey. **In: Proceedings of British Mastitis Conference**. Worcester, UK, p.53 - 54, 2014.

LEACH, K. A.; ARCHER, S. C.; BRENN, J. E.; GREEN, M. J.; OHNSTAD, I. C.; TUER, S.; BRADLEY, A. J. Recycling manure as cow bedding: Potential benefits and risks for UK dairy farms. **The Veterinary Journal**, v.206, p.123–130, 2015.

LESO, L.; BARBARI, M.; LOPES, M. A.; DAMASCENO, F. A.; GALAMA, P.; TARABA, J. L.; KUIPERS, A.; Invited Review: Compost-bedded pack barns for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.103, p.1072–1099, 2020.

MARAGNO, E.S.; TROMBIN, D.F.; VIANA, E. O uso da serragem no processo de minicompostagem. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v.12, n.4, p.355-360, 2007.

PATEL, K.; GODDEN, S.M.; ROYSTER, E.; CROOKER, B.A.; TIMMERMAN, J.; FOX, L. Relationships among bedding materials, bedding bacteria counts, udder hygiene, milk quality, and udder Health in US Dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v.102, p.10213–34, 2013.

PIOVESAN, S. M.; OLIVEIRA, D. S. Fatores que influenciam a sanidade e conforto térmico de bovinos em sistemas compost barn. **Revista Vivências**, v.16, n.30, p.247-258, 2020.

RADAVELLI, W. M. **Caracterização do sistema compost barn em regiões subtropicais brasileiras**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - UDESC, Chapecó, p.01-90, 2018.

REICH, L. J.; WEARY, D. M.; VEIRA, D. M.; KEYSERLINGK, M. A. G. Effects of sawdust bedding dry matter on lying behavior of dairy cows: A dose-dependent response. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.1561- 1565, 2010.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C.; **Análise de alimentos: Métodos Químicos e Biológicos**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 3ª ed., 235p., 2002.

SOUZA, J. L. de; REZENDE, P. L. *Manual de Horticultura Orgânica*. 2ª ed. Viçosa: **Aprenda Fácil**, 2006. 843 p.

TOMANIC, D.; BOZIN, B.; KLADAR, N.; et al. Environmental Bovine Mastitis Pathogens: Prevalence, Antimicrobial Susceptibility, and Sensitivity to *Thymus vulgaris* L., *Thymus serpyllum* L., and *Origanum vulgare* L. Essential Oils. **Antibiotics**, v.11, p. 2-14, 2022.

ZANETONI, H. H. R; **Características do ar e da cama de Instalações para bovinos de leite em sistemas compost barn**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, p. 01-49, 2019.

CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DO ESTERCO RECICLADO USADO COMO CAMA E SEU EFEITO SOBRE A QUALIDADE DO LEITE E EXPRESSÃO DE GENES ANTIOXIDANTES DE VACAS EM CONFINAMENTO

3.1 INTRODUÇÃO

Na pecuária leiteira, o conforto das vacas é fundamental para garantir a saúde e, conseqüentemente, maximizar a produção e a qualidade do leite, bem como melhorar os índices reprodutivos. Vacas criadas em sistema de confinamento demandam de instalações que proporcionem conforto e bem-estar. Sendo assim, os produtores devem estar atentos com a qualidade do material utilizado como cama.

Entre as características desejadas dos materiais usados como cama para vacas leiteiras em sistema *Free stall* estão a disponibilidade, o custo, proporcionar conforto aos animais e apresentar baixo nível de contaminação. Os materiais mais usados são a areia e a serragem, além de colchões de polipropileno, entre outros.

Em relação à serragem, o aumento no custo de aquisição e a escassez em determinados períodos do ano estão levando os produtores de leite a buscarem materiais alternativos. Leach *et al.* (2015) destacaram que a vaca pode reduzir o consumo de alimentos, priorizando seu tempo para descanso e ruminação. Por outro lado, a vaca pode reduzir o tempo deitada, principalmente quando há restrições em permanecer na cama, como o desconforto. Portanto, o tempo destinado ao descanso na cama depende, entre outros fatores, da qualidade dessa cama. Em grande parte do dia, ou seja, de 8 a 16 horas, a vaca pode permanecer deitada (JAMBOR *et al.*, 2023), portanto, a cama deve proporcionar o máximo de conforto aos animais, possibilitando expressarem seu potencial de produção.

Uma alternativa que tem sido utilizada por produtores de leite na região de Castro-PR, é o esterco reciclado (ER), também conhecido como esterco desidratado ou esterco sólido. Este material é obtido por meio da prensagem mecânica dos dejetos de confinamento (esterco e urina), havendo a retirada parcial da umidade. O ER é usado como cama em outros países há anos, no entanto, existem poucos estudos no Brasil em relação aos benefícios, riscos de contaminação, manejo, compostagem e relação custo/benefício.

O município de Castro e região caracteriza-se pela ocorrência de chuvas regulares durante todo ano. Esse fator pode ser um agravante no momento da escolha do material utilizado como cama. Neste sentido, camas de origem orgânica em ambiente úmido proporcionam maior

proliferação microbiana. Desta forma, o grande desafio no uso deste material é manejá-lo de forma a minimizar os riscos de contaminação da glândula mamária.

Fatores como o conforto, incidência de mastite e o controle da qualidade do leite são de grande importância em sistemas intensivos de produção de leite. Esses fatores podem afetar os custos de produção e a remuneração do produtor. Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi analisar as características de camas com esterco reciclado para vacas em confinamento *free stall* e avaliar a produção, a composição do leite e a expressão de genes antioxidantes das vacas mantidas nestas camas.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética e Uso de Animais – CEUA (nº do protocolo 24.000022447-4) da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). O experimento foi realizado em uma propriedade leiteira localizada no município de Castro (PR) (24°50'15''S 49°55'23''W) com altitude de 1008 m, durante o período de seis de setembro a seis de novembro de 2024, totalizando 63 dias. De acordo com o Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR) e com o Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR), Castro-PR possui uma precipitação anual de 1.400 a 1.600 mm, sendo de 500 a 600 mm no verão, e 200 a 300 mm no inverno. A temperatura média anual varia de 17 a 18 °C, sendo a temperatura mínima média anual de 12 a 13 °C e a temperatura média máxima anual de 21 a 22 °C.

3.2.1 Descrição do local e delineamento experimental

A fazenda possui um rebanho de 487 vacas da raça Holandesa em lactação, criadas em sistema *Free stall*, das quais 18 foram utilizadas para o experimento. Estas vacas ficaram em uma instalação coberta com 6,5 m de pé-direito, equipada com 12 ventiladores e camas individuais, com dimensões de 2,7 m de comprimento, 1,2 m de largura, 27cm de profundidade de cama e 20cm de altura do batente traseiro.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema de parcela subdividida no tempo, com dois tipos de cama (tratamentos) e cinco tempos de avaliação. A instalação foi dividida em duas áreas distintas, que constituíram os dois tratamentos: T1= camas compostas por ER e T2= camas compostas por ER misturado à serragem, na proporção de 50% de esterco e 50% de serragem. Foram escolhidas aleatoriamente 15 camas dentro cada tratamento para as análises químicas. Foram avaliadas 9 vacas primíparas dentro de cada tratamento, com dias em leite (DEL) médio de 303, produção de leite média de 33,5 litros/vaca/dia e CCS de 61.000 cels/mL.

Em cada área da instalação correspondente aos tratamentos foram alojadas 50 vacas em lactação e, entre elas, as nove vacas de cada tratamento. Os animais foram avaliados durante 63 dias quanto à produção, composição do leite e expressão de genes antioxidantes. As vacas foram ordenhadas três vezes ao dia, às 7h:00; 15h:00 e 21h:00, em sistema de ordenha mecanizado.

3.2.2 Obtenção do esterco reciclado

O esterco reciclado foi obtido na propriedade, com o uso de um separador de sólidos da Paratrator. Logo após a obtenção do ER foi aplicado cal virgem (óxido de Ca), na proporção de 13 kg de cal/m³ de ER, sendo homogeneizado em uma carreta misturadora e armazenado em leiras em um galpão coberto durante 3 a 7 dias. Posteriormente, aplicou-se mais de 13 kg de cal virgem/m³ e o material foi distribuído nas camas. Diariamente foi aplicado cal hidratada (hidróxido de Ca), na quantidade de 400 g/cama, utilizando-se um trator com garfo hidráulico adaptado ao chassi (Figura 1), para revolvimento e incorporação da cal na cama.

Figura 3.1: Revolvimento da cama com a incorporação da cal hidratada (hidróxido de Ca), utilizando o trator com garfo acoplado.



Fonte: a autora.

3.2.3 Análises da composição do leite

O controle leiteiro foi realizado um dia antes do início do experimento (dia 0 – controle) e, posteriormente, aos 4, 25, 40 e 63 dias de experimento. Amostras de leite foram colhidas por meio de copos amostradores e a produção de leite foi registrada por meio de medidores eletrônicos. As amostras de leite foram identificadas e armazenadas em frascos contendo conservante bronopol e encaminhadas para o laboratório da Associação Paranaense de Bovinos da Raça Holandesa (APBRH), para análise dos teores de gordura, proteína, lactose e sólidos totais sendo determinadas por meio do espectrofotômetro de infravermelho (B 2300 Combi,

Bentley Instruments) (AOAC, 2016). A contagem de células somáticas (CCS) foi realizada por Citometria de Fluxo (Somacount-500, BentleyInstruments), segundo a metodologia em Paula *et al.* (2004).

3.2.4 Análises laboratoriais das camas

Antes do início do experimento foram coletadas 15 amostras (uma de cada cama) em cinco pontos aleatórios de cada cama do *Free stall*, para a realização das análises laboratoriais, constituindo o grupo controle. Após o início do experimento, duas vezes por semana, foram realizadas amostragens da cama, sendo 15 amostragens por tratamento. As amostras foram misturadas, formando amostras compostas, por tratamento, divididas nos seguintes tempos: 3, 6, 13, 49 e 56 dias de experimento. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e armazenadas em uma caixa isotérmica com gelo para o transporte até o Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da UEPG. As amostras foram congeladas em freezer a -5 °C, para posterior análises. Durante o experimento registrou-se a temperatura das camas à 10 cm de profundidade, utilizando-se um termômetro digital tipo espeto, nos seguintes tempos: 0 (controle), 3, 13, 39, 49 e 56 dias.

Ao final do experimento, as amostras das camas foram descongeladas, pesadas e transferidas para uma estufa de ventilação forçada à 65 °C durante 72 horas para a realização da pré-secagem. Posteriormente, o material foi novamente pesado para a determinação da 1ª matéria seca, sendo então moído em moinho tipo wiley, com peneiras de crivos de 2 mm. Em seguida, realizou-se as análises dos teores de matéria seca (MS), nitrogênio e carbono. Para a análise de MS, utilizou-se a metodologia descrita de Silva e Queiroz (2002).

Os teores de N e C das amostras das camas foram analisados no laboratório do Departamento de Solos da UEPG. Pesou-se 0,5 g de amostra para a determinação de C e 1,0 g para a análise de Nitrogênio. Utilizou-se a metodologia descrita por Kiehl (1985), para análises de fertilizantes orgânicos. Para a análise do teor de nitrogênio, realizou-se as etapas de digestão, destilação e titulação, pelo método de Kjeldahl (AOAC, 2016). Para análise do pH, utilizou-se uma amostra fresca, sendo o pH determinado por meio de um potenciômetro digital, de acordo com a metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002).

Realizou-se a análise de contagem padrão em placas (CPP) das amostras das camas, coletadas antes do início do experimento (controle) e, posteriormente, nos seguintes tempos: 20, 46 e 63 dias de experimento, totalizando 4 amostras por tratamento. Essas amostras foram coletadas e imediatamente transportadas em caixas isotérmicas com gelo até o Laboratório de Patologia Animal LabVet, localizado no município vizinho de Carambeí-PR.

As análises de cultura microbiológica foram realizadas nas amostras das camas coletadas no dia 0 (antes do experimento) e no 63º dia. No laboratório, foram pesadas 2,5 g em placas esterilizadas e identificadas, sendo então realizadas as diluições e homogeneização das amostras. Utilizou-se os meios de cultura: *Plate Count Ágar* (PCA), ágar sangue (AS), ágar Baird Parker (BP), ágar MacConkey (MAC) e Batata (AB), e realizou-se a incubação das placas em estufa B.O.D. a 36 °C durante 24 a 48 h. Após esse período, realizou-se a leitura visual das placas e identificação dos microrganismos.

3.2.5 Análise estatística

Os dados foram testados para normalidade e homogeneidade de variâncias. Foi utilizada a análise de variâncias e em caso de significância foi utilizado o teste F para comparação dos tratamentos e análise de regressão para a comparação dos tempos de amostragem. Para a análise estatística dos dados de CPP e CCS, bem como para as variáveis em que não houve normalidade ou homogeneidade de variâncias, os valores foram transformados para a escala logarítmica (log 10). Utilizou-se o programa estatístico R, com o nível de 5% de significância.

Em relação às análises microbiológicas das camas, foram calculadas as frequências relativas, em percentagem, de cada microrganismo identificado.

3.2.6 Análises de expressão gênica

Para análise da expressão dos genes antioxidantes, foram colhidas amostras de sangue das 18 vacas dos tratamentos: cama com esterco reciclado e cama com esterco reciclado + serragem. O sangue foi colhido da veia mamária de cada vaca em frascos contendo anticoagulante EDTA, sendo mantidos sob refrigeração até serem transportadas ao laboratório de Biologia Cromossômica: Estrutura e Função, da Universidade Estadual de Ponta Grossa. No laboratório, as amostras foram centrifugadas a 4.000 RPM durante 15 minutos, com o objetivo de isolar a camada leucocitária (*buffy coat*), posteriormente utilizada no processo de extração de RNA.

Extração do RNA e Síntese da fita de DNA complementar (cDNA)

A extração do RNA total foi realizada utilizando o reagente *Trizol* (Invitrogen, Life Technologies, Carlsbad, USA), seguindo o protocolo recomendado pelo fabricante. As amostras de RNA foram quantificadas em Espectrofotômetro UV - VIS (Eppendorf, BioSpectrophotometro Kinetic) e as razões de absorbância (A260/280 e A260/230) foram utilizados para verificar a qualidade da extração do RNA. A síntese da fita de DNA complementar (cDNA) foi realizada usando 2 µg de RNA total extraído, que foi transcrito

reversamente utilizado o kit *GoScript™ Reverse Transcription System* (Promega), seguindo o protocolo recomendado pelo fabricante.

Ensaio de expressão gênica e análise estatística

As amostras de cDNA foram utilizadas como molde para ensaios da expressão dos genes antioxidantes: *SOD1*, *SOD2*, *SOD3*, *CATALASE*, *GPx1*, *GPx3* e *GAPDH* (utilizado como gene de referência). A sequência dos primers utilizados está listada na Tabela 3.1.

As reações de amplificação foram realizadas em duplicatas para cada amostra, utilizando os seguintes reagentes: 2x *Go Taq qPCR Master mix* (Promega), 0,3 µM *primer forward* e *reverse*, cDNA (20 ng/µl) e água q.s.p. para completar um volume final de 10 µl. As condições de qRT-PCR consistiram das seguintes etapas: desnaturação a 95 °C por 2 min, seguida por 40 ciclos de desnaturação de 15 s a 95 °C; anelamento a 60 °C por 30 s; e uma extensão final a 72 °C por 30 s, seguido de uma curva de dissociação (1 min a 95 °C, 30 s a 55 °C e 30 s a 95 °C). A Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa em Tempo Real (qRT-PCR) foi realizada em equipamento *QuantStudio 5 Real-Time PCR Systems*.

Tabela 3.1: Sequências dos *primers* dos genes *SOD1*, *SOD2*, *SOD3*, *CATALASE*, *GPx1*, *GPx3* e *GAPDH*

Gene	Primer Forward (5' → 3')	Primer Reverse (5' → 3')
<i>SOD1</i>	TGTTGCCATCGTGGATATTGTAG	CCCAAGTCATCTGGTTTTTCATG
<i>SOD2</i>	TCAATAAGGAGCAGGGACGC	GCAGGGGGGATAAGACCTGTTG
<i>SOD3</i>	GAAGAGCTGGAAAGGGCCTG	TCACGGTTTGGGTACCACTG
<i>CATALASE</i>	CTATGGCCTCCGCGATCTTT	CGTGAGGCCAAACCTTGGTA
<i>GPx1</i>	TTCCCCTGCAACCAGTTTGG	TCGGACGTACTTCAGGCAAT
<i>GPx3</i>	AGATCCTAGCCACCCCAAGTAT	CCCCATTACATCGCCTTTC
<i>GAPDH</i>	GAAGGTCGGAGTGAACGGATTC	AAGGGGTCATTGATGGCGAC

Fonte: a autora.

Para a análise estatística dos dados de expressão gênica, após a obtenção do *Threshold Cycle* (*Ct*), a mudança relativa na expressão gênica foi apresentada como $2^{-\Delta\Delta C_t}$ (Livak; Schmittgen, 2001). Utilizou-se o teste T de *Student*, com significância atribuída de $p < 0,05$. As análises foram realizadas por meio do *software* GraphPad Prism® 5 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). A expressão gênica foi normalizada em relação ao gene de expressão constitutiva *GAPDH* (*Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase*).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para os teores de MS da cama, houve interação ($p < 0,05$) entre tipo de cama e os dias de amostragem (Tabela 3.2). Os teores de MS de ambas as camas foram altos, com média de 79,81% no início do experimento. Isso ocorreu devido à quantidade de cal virgem e de cal hidratada aplicadas na cama (26 kg/m^3 de cal virgem e 400 g/dia de cal hidratada/cama. Reich *et al.* (2010) e Fregonesi *et al.* (2007) comprovaram que os animais têm preferência por camas mais secas, com alto teor de MS, variando de 86 a 89%.

O teor de MS da cama diferiu ($p < 0,05$) nos tempos 0, 13, 49 e 56 dias, com maior teor de MS para a cama composta de ER + serragem em comparação com o ER. Já no 49º e no 56º dia, as camas com ER apresentaram maior teor de MS. Este resultado pode ser devido à maior ação microbiana no esterco, causando maior fermentação e produção de calor e, consequentemente, redução no teor de umidade em função do tempo de compostagem.

Tabela 3.2: Médias de Matéria Seca (MS), em %, do esterco reciclado (ER) e esterco reciclado + serragem em função dos dias de amostragem e níveis médios descritivos de probabilidade e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C)

Tipo de cama	Dia					L	Q	C
	0	3	13	49	56			
ER	77,99b	77,71 ^a	72,55b	86,41a	88,05a		*	
ER+ Serragem	81,63a	76,51 ^a	75,81 ^a	74,85b	83,79b		*	

Letras diferentes na mesma coluna, dentro de cada tratamento, diferem ($p < 0,05$) pelo teste de F. CV tratamento = 11,47%. CV tempo = 6,13%. ER+ Serragem: $Y = 80,8340 - 0,724 + 0,0133x^2$, ($P_{\min} \sim 27$ dias) $R^2: 0,68$; ER: $Y = 77,94 - 0,4406x + 0,0116x^2$, ($P_{\min} \sim 19$ dias) $R^2: 0,93$.

Em ambos os tratamentos houve comportamento quadrático ($p < 0,05$) para os teores de MS em função dos tempos de amostragem, com pontos de mínimo ($P_{\min}$) ocorrendo no 19º e 27º dia, respectivamente, para as camas com ER e ER + serragem. De acordo com Pantoja *et al.* (2020), a diminuição do teor de MS pode resultar em aumento da sujidade dos animais e, por consequência, no aumento da incidência de mastite, podendo ser correlacionado como o principal fator causador de mastite clínica ambiental em propriedades leiteiras.

Segundo Jeppsson *et al.* (2024), o escore de limpeza de úbere é um fator importante para a saúde da glândula mamária. Os autores compararam a limpeza de úbere em relação aos diferentes tipos de cama: ER, serragem e colchões cobertos de serragem, e verificaram que o ER, embora tenha apresentado maior carga bacteriana quando comparado a serragem,

proporcionou melhor nível de limpeza de úbere. Os autores sugeriram que esse resultado estaria relacionado ao maior teor de MS, reduzindo a aderência de sujidade à pele dos animais.

O teor de MS da cama é um fator importante para o bem-estar e saúde da vaca. De acordo com Reich *et al.* (2010), o tipo da cama, a quantidade e a qualidade afetam diretamente no tempo em que o animal permanece deitado. A cama, em sistemas de confinamento em compost barn, por consequência do acúmulo de urina e fezes, pode se tornar cada vez mais úmida, comprometendo sua qualidade, levando ao aumento dos casos de mastite. No entanto, em sistemas de confinamento free stall, embora as vacas esterquem ocasionalmente nas camas, o fato de permanecerem deitadas por várias horas/dia faz com que a demanda por camas mais secas seja primordial. Outro fator a ser considerado em relação ao aumento do teor de umidade da cama é o aumento da umidade relativa do ar, com a ocorrência de chuvas e manejo das camas.

Houve efeito de interação ($P < 0,05$) entre o tipo de cama e os tempos de amostragem para os valores de CPP (Tabela 3.3). A CPP das camas avaliadas foi semelhante nos tempos 0, 20 e 46 dias. Apenas no 63º dia de compostagem a CPP foi maior ($p < 0,05$) na cama com esterco reciclado e serragem em comparação à cama com apenas esterco reciclado.

Tabela 3.3: Médias de CPP ($\times 1.000$ UFC/g) do esterco reciclado (ER) e esterco reciclado + serragem em função dos dias de amostragem e níveis médios descritivos de probabilidade e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C)

Tratamento	Dia				L	Q	C
	0	20	46	63			
ER	648.800 ^a	293.333 ^a	175.133 ^a	334.000 ^b		*	
ER + Serragem	708.666 ^a	177.333 ^a	116.733 ^a	1.076.800 ^a		*	

Para a análise de CPP os dados foram transformados em logaritmo na base 10. Letras diferentes na mesma coluna, diferem ($p < 0,05$) pelo teste F. CV tratamento= 4,65%, CV tempo= 4,41%. ER + Serragem: $Y = 8,7873 - 0,0675x + 0,0012x^2$, ($P_{\min} \sim 28$ dias) $R^2 = 0,99$; ER: $Y = 8,7056 - 0,0358x + 0,0005x^2$ ($P_{\min} \sim 36$ dias) $R^2 = 0,99$.

O aumento da CPP com a adição da serragem pode estar relacionado ao manejo da cama, à qualidade da serragem e às condições ambientais. Black *et al.* (2014) demonstraram que as variáveis ambientais como a temperatura, umidade e razão C:N, também podem influenciar a dinâmica microbiana das camas.

A CPP apresentou comportamento quadrático para ambos os tratamentos, com ponto de mínimo do ER aproximado no 36º dia e para o ER+Serragem com ponto de mínima aproximadamente no 28º dia. Jeppsson *et al.* (2024) compararam o uso do ER e serragem como materiais para cama de animais confinados em sistema *free stall*, avaliando a cama antes e após o uso. Os autores relataram que o ER apresentou maior carga microbiana em comparação com

a serragem. Na cama limpa, ou seja, antes da utilização, o ER apresentou 316.227×10^3 UFC/g, já a serragem 54×10^3 UFC/g. Após o uso da cama, o ER apresentou $5.623.413 \times 10^3$ UFC/g e a serragem 426.579×10^3 UFC/g. Portanto, os autores verificaram que a carga microbiana no ER foi superior ao longo do estudo realizado, sendo este resultado contrário ao verificado no presente trabalho.

De acordo com Damasceno *et al.* (2020), a concentração média de bactérias nas camas de propriedades leiteiras no Brasil utilizando esterco reciclado é de 501.000.000 UFC/g. Este valor é superior ao encontrado no presente trabalho aos 63 dias de compostagem (334.000.000 UFC/g). No entanto, ambas as camas apresentaram alta contaminação microbiana no tempo zero (início do experimento), que reduziu ao longo do tempo em função da adição de cal virgem, principalmente, e de cal hidratada. Porém, com as reposições diárias de cama, a CPP aumentou novamente, mostrando um comportamento quadrático.

Locatelli *et al.* (2008) verificaram aumento na CPP ao utilizar ER como cama quando comparado a areia. Os autores mencionaram diminuição da CPP em função do tempo de armazenamento do ER. Ainda, os autores também observaram aumento da contaminação por *Escherichia coli* e *Klebsiella* nas camas com ER nos meses mais quentes e úmidos, comprometendo a qualidade da cama e predispondo as vacas à ocorrência de mastite.

Em relação às médias de pH da cama, houve interação ($P < 0,05$) entre o tipo de cama e os tempos de amostragem (Tabela 3.4).

Tabela 3.4: Médias de pH do esterco reciclado (ER) e esterco reciclado + serragem em função dos dias de amostragem e níveis médios descritivos de probabilidade e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C)

Tipo de cama	Dia						L	Q	C
	0	3	13	39	49	56			
ER	10,41a	10,41 ^a	10,80a	10,31 ^a	10,23b	10,24a		*	
ER+ Serragem	10,40a	10,38 ^a	10,75a	10,37 ^a	10,37a	10,23a		*	

Letras diferentes na mesma coluna, diferem ($p < 0,05$) pelo teste F. CV tratamento = 1,25%. CV tempo = 0,92%
 ER+ Serragem: $Y = 10,4215 + 0,0170x - 0,0004x^2$ ($P_{\text{máx}} \sim 21$ dias) $R^2 = 0,60$; ER: $Y = 10,466 + 0,0125x - 0,0003x^2$ ($P_{\text{máx}} \sim 21$ dias) $R^2 = 0,55$.

O pH de ambas as camas apresentou comportamento quadrático, com ponto de máximo aproximadamente no 21º dia do experimento. De acordo com Damasceno *et al.* (2024), o uso da cal provoca alcalinidade na cama e contribui com a redução nos casos de mastite clínica e subclínica. Hogan e Smith (1997) relataram que o elevado pH da cal inibe o crescimento bacteriano. Nos dois tratamentos, a proporção de cal utilizada nas camas, tanto hidratada, no

revolvimento diário, quanto a cal virgem, após a passagem pelo separador de dejetos, foi alta. Portanto, o pH elevado ocorreu devido à presença de cal nas camas.

Em relação às médias de temperatura da cama, houve interação ($P < 0,05$) entre o tipo de cama e os tempos de amostragem (Tabela 3.5).

Tabela 3.5: Médias de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) do esterco reciclado (ER) e esterco reciclado + serragem em função dos dias de amostragem e níveis médios descritivos de probabilidade e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C)

Tipo de cama	Dia						L	Q	C
	0	3	13	39	49	56			
ER	32,22a	31,98a	33,3a	34,03a	32,2b	31,86a	ns	ns	ns
ER+ Serragem	31,48a	32,92a	32,65a	32,27a	37,83a	31,67a		*	

Letras diferentes na mesma coluna, diferem ($p < 0,05$) pelo teste F. CV tratamento = 6,57%. CV tempo = 7,25%
 ER+ Serragem: $Y = 32,2547 + 0,0941x - 0,0012x^2$. ($P_{\text{máx}} \sim 39$ dias) $R^2 = 0,10$;

Não houve diferença ($p > 0,05$) na temperatura entre os tratamentos nos tempos 0, 3, 13, 39 e 56 dias. No entanto, no 49º dia o tratamento de ER+ Serragem apresentou maior temperatura ($37,83^{\circ}\text{C}$) comparado ao tratamento ER ($32,2^{\circ}\text{C}$). A temperatura média da cama ER+ Serragem foi de $33,3^{\circ}\text{C}$ e do ER $32,6^{\circ}\text{C}$. De acordo com Bewley *et al.* (2013), para que a compostagem ocorra de forma adequada, a temperatura da cama deve estar entre 43 e 65°C e a umidade entre 40 e 60%. Black *et al.* (2013) avaliaram a temperatura de camas de *compost barn* a 10 cm de profundidade, encontraram médias de $32,3^{\circ}\text{C}$. A 20 cm de profundidade, a temperatura média foi de 36°C . Logo, as temperaturas encontradas no presente trabalho foram inferiores ao mencionado pelos autores supracitados. Isto provavelmente ocorreu devido ao alto teor de MS (Tabela 3.2) causado pela alta concentração de cal nas camas, que pode ter limitado a fermentação microbiana e, conseqüentemente, a elevação da temperatura.

O produtor, ao utilizar o esterco reciclado em camas de confinamento *Free stall*, não tem como propósito a realização da compostagem, porém, ela irá ocorrer de maneira natural, por ser um material orgânico que, sob condições de umidade, favorece a ação microbiana. De acordo com Black *et al.* (2013), temperaturas acima de 55°C promovem a sanitização das camas em compostagem, levando à eliminação de bactérias causadoras de mastite. Da mesma forma, Eckelkamp *et al.* (2016) relataram que em camas em compostagem sob temperaturas elevadas (54 a 65°C) por pelo menos 3 a 4 dias, há a inativação das bactérias patogênicas.

Houve diferença entre os tratamentos e o tempo para as médias dos teores de carbono ($p > 0,05$) (Tabela 3.6). Observa-se que o tratamento com serragem apresentou maior proporção de carbono quando comparado ao tratamento de ER.

Tabela 3.6: Médias dos teores de Carbono (%) do esterco reciclado (ER) e esterco reciclado + serragem em função dos dias de amostragem e níveis médios descritivos de probabilidade e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C)

Tipo de cama	Dia						L	Q	C
	0	3	13	39	49	56			
ER	8,49b	8,49b	14,43b	10,49b	9,13b	9,45b		*	
ER+Serragem	9,87a	9,88a	15,74a	11,78a	13,81a	11,57a		*	

Letras diferentes na mesma coluna, difere ($p < 0,05$) pelo teste F. CV tratamento = 1,25 %; CV tempo = 0,92 %; ER+Serragem: $Y = 10,1784 + 0,2935x - 0,0049x^2$ ($P_{\text{máx}} \sim 30$ dias) $R^2 = 0,43$; ER: $Y = 8,8887 + 0,2824x - 0,0052x^2$ ($P_{\text{máx}} \sim 27$ dias) $R^2 = 0,42$.

O Carbono apresentou comportamento quadrático para ambos os tipos de cama, com ponto de máxima para o tratamento ER no 27º dia para a cama ER+ Serragem, o ponto de máxima ocorreu no 30º dia. A compostagem consiste na mistura de uma fonte de carbono com a matéria orgânica, contendo uma fonte de nitrogênio. Durante o processo de compostagem são liberados dióxido de carbono, água e calor, sendo a cama a principal fonte de carbono, proveniente de serragem (Andrade *et al.*, 2022). Ainda segundo os autores, o esterco é fonte de nitrogênio, por isso a razão C:N ideal para a compostagem seria entre 25:1 a 30:1. No presente trabalho, observa-se que o tratamento com serragem apresentou maior teor de C em relação ao tratamento com apenas ER, estando de acordo com descrito pelos autores.

Em relação aos teores de N das camas, não houve interação entre o tipo de cama e os tempos de amostragem ($P > 0,05$). O teor de N da cama com ER foi de 0,45% e da cama com ER + serragem foi de 0,46%, não havendo diferença entre ambos ($P > 0,05$). Os valores médios de N do presente estudo estão abaixo do recomendado por Leso et al. (2020), de 1 a 3,57% (Leso *et al.* 2020). Os baixos valores de N podem ser atribuídos a uma baixa compostagem do material, justificada pela quantidade de C e baixo teor de umidade.

Houve diferença na razão C:N entre os tratamentos em função do tempo de amostragem ($p < 0,05$), como demonstrado na Tabela 3.7. Observa-se que ao longo de todo o experimento o tratamento com serragem apresentou maior razão C:N quando comparado ao ER. Nos tempos 3 e 56 dias não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos.

Tabela 3.7: Médias da Razão Carbono Nitrogênio do esterco reciclado (ER) e esterco reciclado + serragem em função dos dias de amostragem e níveis médios descritivos de probabilidade e equações de regressão para efeitos linear (L), quadrático (Q) e cúbico (C)

Tipo de cama	Dia						L	Q	C
	0	3	13	39	49	56			
ER	17,01b	16,57a	35,54b	21,96b	20,53b	20,78 ^a		*	
ER+Serragem	19,64a	18,04a	52,66a	27,77 ^a	31,05a	24,00a		*	

Letras diferentes na mesma coluna, diferem ($p < 0,05$) pelo teste F. CV tratamento = 12,94 %; CV tempo = 12,85%; ER+Serragem: $Y = 21,047 + 1,5880x - 0,0288x^2$ ($P_{\max} \sim 28$ dias) $R^2 = 0,39$; ER: $Y = 17,913 + 0,8967x - 0,0163x^2$ ($P_{\max} \sim 28$ dias) $R^2 = 0,41$.

A razão C:N apresentou comportamento quadrático para o ER e ER+ Serragem, com ponto de máxima no 28º dia para ambos os tipos de cama. A razão C:N é um fator limitante na compostagem dos materiais. Damasceno (2020) relata que para a compostagem é ideal que a razão C:N seja aproximadamente de 30:1. De acordo com Ferraz *et al.*, (2020), quando essa razão está abaixo de 26, o excesso de N é convertido em amônia e eliminado na atmosfera. Observa-se neste trabalho que em todos os tempos, a combinação do esterco reciclado com a serragem proporcionou maior razão de C:N, estando mais próxima da relação ideal para favorecer o processo fermentativo da compostagem.

Não houve efeito do tipo de cama, tempo de amostragem das camas e da interação ($P > 0,05$) entre o tipo de cama e os tempos de amostragem das camas em relação à composição do leite (Tabela 3.8).

Tabela 3.8: Teores médios de gordura (%), proteína (%), lactose (%), sólidos totais (ST) (%) e contagem de células somáticas (CCS, x1.000 cels/mL) do leite em função dos tipos de cama

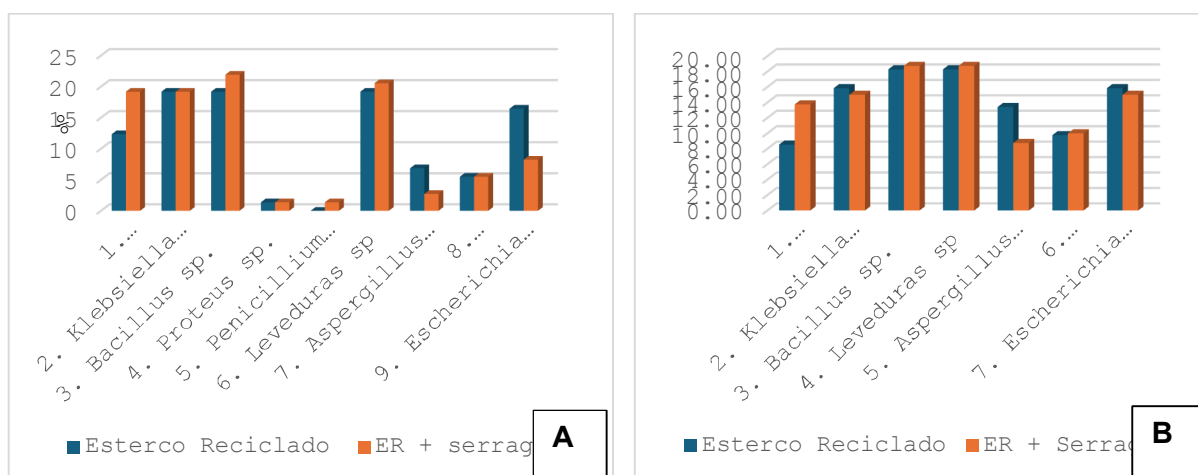
Tipo de cama	Gordura	Proteína	Lactose	ST	CCS	L	Q	C
ER	4,61a	3,73a	4,79a	14,06a	41a	ns	ns	ns
ER+ Serragem	4,13a	3,46a	4,68a	13,39a	80a	ns	ns	ns

Médias seguidas de letras diferentes na coluna, diferem pelo teste F, a 5% de significância. CCS: A variável foi transformada para log na base 10.

Para ambos os tratamentos, os padrões mínimos de qualidade do leite exigidos pelo MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) foram atendidos, segundo as Instruções Normativas no 76 e 77, superando o teor mínimo de gordura (3,0 g/100 g), proteína (2,9 g/100 g) e sólidos totais (11,4g/100g). Em relação a CCS, destaca-se que o valor médio foi muito baixo, indicando baixo risco de mastite. Portanto, os animais mantidos em ambos os tipos de cama apresentam excelente saúde da glândula mamária.

Na Figura 3.2 encontram-se as frequências relativas dos microrganismos presentes nas camas. Houve variação nas proporções de microrganismos nas camas com esterco reciclado e com esterco reciclado + serragem.

Figura 3.2: Frequência relativa (%) dos microrganismos presentes nas camas, no dia 0 (controle) (A) e aos 60 dias de experimento (B).



Fonte: a autora.

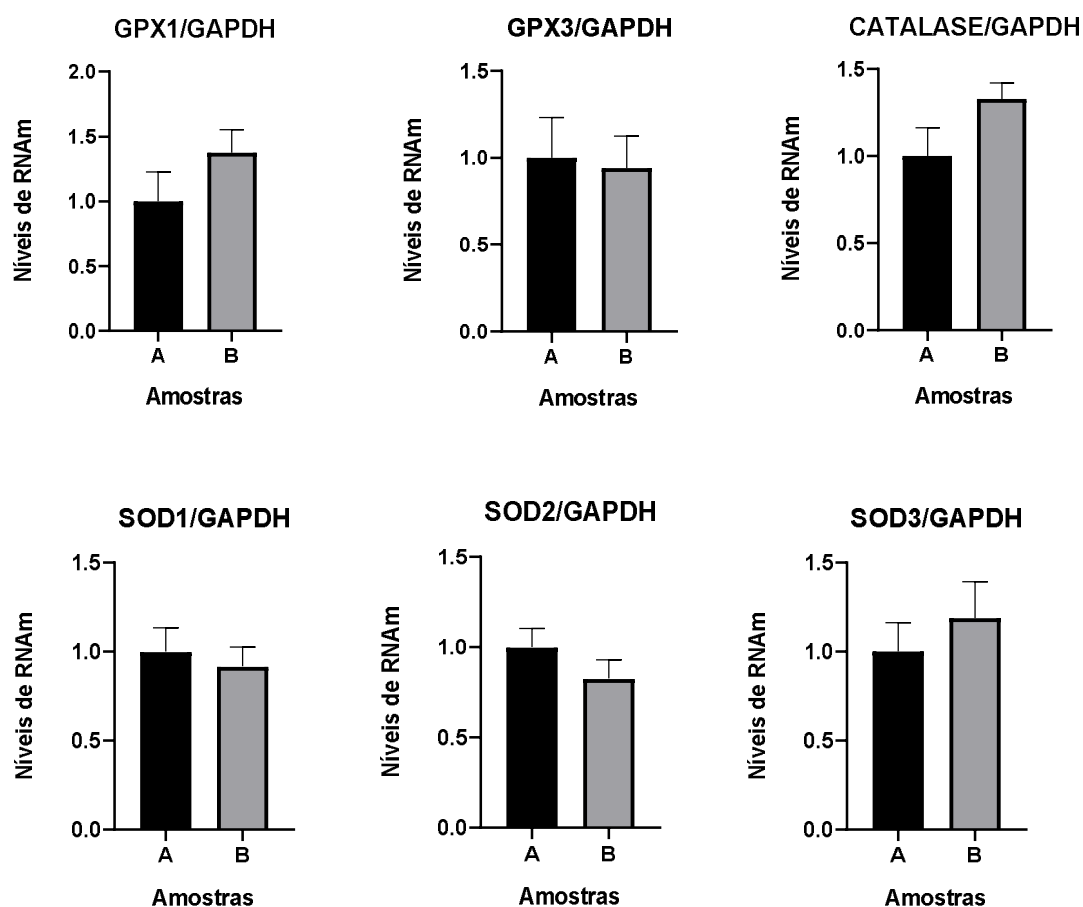
A inflamação da glândula mamária causada pela entrada de patógenos pelo canal do teto, causa alterações na composição do leite (Campos, *et al.*, 2023). Sendo assim, a identificação dos microrganismos causadores de mastite, seja ambiental ou contagiosa, é de grande importância para a prevenção e redução do número de casos no rebanho. De acordo com os autores, bactérias causadoras de mastite contagiosa normalmente são resistentes ao tratamento com antimicrobianos e entre elas está o *Staphylococcus sp.* Esta bactéria apresentou aumento na frequência relativa com o aumento do tempo de compostagem. Da mesma forma, segundo Sá *et al.* (2018), o *Streptococcus agalactiae* está entre os principais agentes causadores de mastite contagiosa. O *Streptococcus sp* esteve presente no início e no fim do período experimental, com maior frequência nas camas contendo serragem.

As camas com apenas ER apresentaram menores percentuais de *Streptococcus sp*, *Bacillus sp*, e leveduras *sp.* comparadas com a cama com serragem, em ambos os tempos de amostragem. Por outro lado, as camas com ER + serragem tiveram menor percentual de *Aspergillus sp* e *E. coli* aos 60 dias de amostragem. A *Klebsiella spp.* é um microrganismo comumente encontrado no solo e em outros materiais orgânicos como a serragem, assim como no trato gastrointestinal de vacas. Este patógeno causa mastite ambiental, levando a perdas prolongadas de produção de leite (Ferreira, 2022). Verificou-se no presente trabalho que a proporção deste patógeno diminuiu com o tempo de compostagem. Janni, *et al.* (2007) mencionaram que o uso de serragem úmida pode ter influência na proporção de *Klebsiella*. Neste trabalho, mesmo com altos teores de MS, o tratamento com

esterco reciclado favoreceu a presença deste patógeno, porém, sua proporção foi menor aos 60 dias de compostagem.

As análises da expressão gênica relativa dos genes *GPx1* ($P=0.2154$), *GPx3* ($P=0.8458$), *CATALASE* ($P=0.0866$), *SOD1* ($P=0.6500$), *SOD2* ($P=0.2965$) e *SOD3* ($P=0.5472$), a partir de RNAm obtidos de amostras de sangue de vacas mantidas em dois tipos de camas não indicaram diferenças ($P>0,05$) entre os tratamentos (Figura 3.3).

Figura 3.3: Análise da expressão dos genes antioxidantes comparando as amostras do tratamento ER + serragem (amostra A) e do tratamento ER (amostra B).



Fonte: a autora.

Os antioxidantes são substâncias que protegem as células e o material genético do corpo da oxidação. Doenças como a mastite e metrite que acometem vacas leiteiras estão normalmente relacionadas com problemas oxidativos nas células (AYEMELE *et al.*, 2021) em função da ação de microrganismos patogênicos. O estresse oxidativo em vacas leiteiras constitui um desequilíbrio entre a produção de radicais livres e na capacidade do organismo em neutralizá-los, levando a danos celulares e teciduais. Esse desequilíbrio pode ser exacerbado por diversos fatores, como a alta

produção de leite, o estresse térmico e problemas metabólicos, tornando as vacas mais suscetíveis a doenças. Ao neutralizar os radicais livres, os antioxidantes ajudam a prevenir danos celulares e o envelhecimento precoce.

A resposta imune à infecção da glândula mamária é mediada por células fagocíticas, como macrófagos, neutrófilos e linfócitos. A detecção de patógenos desencadeia a fagocitose, processo no qual os microrganismos são internalizados e contidos em fagossomos. A subsequente maturação desses fagossomos, por fusão com endossomos e lisossomos, culmina em um aumento da produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ROS). Tais moléculas instáveis e altamente reativas, contendo oxigênio, podem causar dano oxidativo ao tecido celular, conforme descrito por Romero-Durán et al. (2024). Ainda segundo os autores, a acumulação excessiva de ROS não apenas induz a morte celular programada (apoptose), mas também ativa vias de sinalização celular pró-inflamatórias. A ativação do fator de transcrição nuclear kappa B (NF- κ B), em particular, promove a expressão e a liberação de uma série de citocinas pró-inflamatórias, incluindo o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina-6 (IL-6) e interleucina-1 β (IL-1 β), perpetuando assim o ciclo inflamatório. Sendo assim, a análise estatística não revelou diferenças significativas entre os grupos de tratamento, sugerindo que o nível da atividade antioxidante do organismo foi semelhante entre os animais.

Sendo assim, a análise estatística não revelou diferenças significativas entre os grupos de tratamento, sugerindo que o nível da atividade antioxidante do organismo foi semelhante entre os animais. Portanto, pode-se inferir que tanto o esterco reciclado como sua mistura com a serragem não causaram a proliferação exacerbada de microrganismos patogênicos que causassem um desafio maior aos animais, não havendo aumento da ROS. Este resultado confirma-se também pelos baixos valores de CCS no leite das vacas avaliadas.

3.4 CONCLUSÕES

O uso de esterco reciclado como cama para vacas da raça Holandesa em confinamento *free stall* não causou alterações na composição do leite, sendo observados baixos valores de CCS e altos valores de gordura e proteína. Apesar destes resultados, verificou-se alta contaminação microbiana nas camas com esterco reciclado e com ER+serragem. A inclusão de óxido de Ca (cal virgem), na quantidade de 26kg/m³ proporcionou aumento no teor de MS das camas com esterco reciclado e esterco reciclado+ serragem, reduzindo os riscos de mastite. O esterco reciclado, com ou sem serragem, embora tenha apresentado microrganismos patogênicos, não estimulou a expressão dos genes antioxidantes em vacas leiteiras, indicando que estes microrganismos não causaram um desafio significativo aos animais. Este resultado

aliado aos baixos valores de CCS, mostram que é possível utilizar o esterco reciclado como cama para vacas leiteiras, sem comprometer a sanidade da glândula mamária, porém, a presença de cal foi fundamental.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, R. R.; SOUZA, C. F.; BAÊTA, F. C. Instalações para Bovinocultura Leiteira. **Revista Brasileira de Buiatria**, v.3, n.1, p.26-40. 2022.

AOAC – **Association of Official Analytical Chemists**, 20th Edition, AOAC Inc., Washington DC. 2016.

AYEMELE, A.G.; TILAHUN, M.; LINGLIN, S.; et al. Oxidative Stress in Dairy Cows: Insights into the Mechanistic Mode of Actions and Mitigating Strategies. **Antioxidants**, v.10, n.9, p.2-21. 2021.

BLACK, R.A.; TARABA, J.L.; DAY, G.B.; DAMASCENO, F.A.; BEWLEY, J.M. Compost bedded pack dairy barn management, performance, and producer satisfaction. **Journal of Dairy Science**, v.96, n.12, p.8060-8074, 2013.

BEWLEY, J. M. et al. Guidelines for managing compost bedded-pack barns. **Dairy Pr. Counc.**, 2013.

COLE, E.; HOGAN, J. S. Comparison of composted and fresh recycled manure bedding for dairy cows housed in free-stall barns. **Journal of Dairy Science**, v.99, n.1, p.1–7, 2016.

DAMASCENO, F. A. Processo de Compostagem. F. A. (Coord.). **Compost barn como alternativa para pecuária leiteira**. 1ed. Divinópolis: Adelante, cap. 9, p. 127-145, 2020.

DAMASCENO, C. S.; SALES, G. S.; ROSA, M. S.; RIBEIRO, A. R.; REIS, V. A. P.; RIBEIRO, C. H.; **Frequência de revolvimento das camas orgânicas de free-stall com uso da cal hidratada**. Anais da 16ª Jornada Científica e Tecnológica e 13º Simpósio de Pós-Graduação do IFSULDEMINAS. v. 15, n. 3, p. 1–9, 2023.

ECKELKAMP, E. A.; TARABA, J. L.; AKERS, K. A.; HARMON, R. J.; BEWLEY, J.M. Understanding compost bedded pack barns: interactions among environmental factors, bedding characteristics, and udder health. **Livestock Science**, v.190, p.35-42, 2016.

FÁVERO, S.; HOGAN, J. S.; SMITH, K. L. Longitudinal trends and associations between compost bedding characteristics and bedding bacterial concentrations. **Journal of Dairy Science**, v.98, n.3, p.1701–1709, 2015.

FERRAZ, P. F.P; LESO, L.; KLOPCIC, M.; BARBARI, M.; ROSSI, G.; Properties of conventional and alternative bedding materials for dairy cattle: *Journal of Dairy Science*. v. 103, p.8661–8674. 2020.

FERREIRA, B. H. A.; RIBEIRO, L. F.; Mastites causadas por *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. e *Streptococcus uberis* relacionadas ao sistema de produção *Compost barn* e o impacto na qualidade do leite. **Revista Gestão Tecnologia e Ciências (GeTec)**, v.11, n.35, p.01-18. 2022.

FRÉCHETTE, A.; FECTEAU, C.; COTE, S.; DUFOUR, S. Association between recycled manure solids bedding and subclinical mastitis incidence: A Canadian cohort study. **Frontiers in Veterinary Science**, v.9, p. 859-. 2022. FALTA A PÁGINA FINAL

FREGONESI, J. A.; VEIRA, D. M.; KEYSERLINGK, M. A. G.; Effects of Bedding Quality on Lying Behavior of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p.5468–5472. 2007.

HOGAN, J. S.; BOGACZ, V. L.; THOMPSON, L. M.; ROMIG, S.; SCHOENBERGER, P. S.; WEISS, W. P.; SMITH, K. L. Bacterial counts associated with sawdust and recycled manure bedding treated with commercial conditioners. **Journal of Dairy Science**, Champaign, IL, v. 82, n. 8, p. 1690–1695, 1999.

JAMBOR, T.; KOVACIKOVA, E.; KOVACIK, A.; DROTAR, Z. BIREŠ, J. Verification of efficiencies of Hygienic Separator, and Bacteriological Evaluation of Recycled Manure Material used as Bedding for Dairy Cows. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v.13, p. 01 – 06, 2023.

JANNI, K. A.; ENDRES, M. I.; RENEAU, J. K.; SCHOPER, W. W.; Compost dairy barn layout and management recommendations. **Applied Engineering in Agriculture**, v.23, p97–102, 2007.

JEPPSSON, K.H.; MAGNUSSON, M.; NILSSON, S.B.; et al. Comparisons of recycled manure solids and wood shavings/sawdust as bedding material: Implications for animal welfare, herd health, milk quality, and bedding costs in Swedish dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 107, p. 5779–5793, 2024.

LEACH, K. A.; ARCHER, S. C.; BREEN, J. E.; GREEN, M. J.; OHNSTAD, I. C.; TIER, S.; BRADLEY, A. J. Recycling manure as cow bedding: Potential benefits and risks for UK dairy farms. **The Veterinary Journal**, v. 206, p. 123–130, 2015.

LESO, L.; BARBARI, M.; LOPES, M. A.; DAMASCENO, F. A.; GALAMA, P.; TARABA, J. L.; KUIPERS, A.; Invited Review: Compost-bedded pack barns for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.103, p.1072–1099. 2020.

LIVAK, Kenneth J. et al. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻ΔΔCT method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402-408, 2001.

LOCATELLI, C.; SCACCABAROZZI, L.M.; CASULA, A.; HAROUANA, A.; MORONI, P.; 2008, Manure Solids Bedding as a Source of Clinical Environmental Mastitis, **Proceedings of the 47th Annual Meeting of the National Mastitis Council**, New Orleans, USA, 2008, p. 224-225.

PANTOJA, J. C. F.; DAMASCENO, F. A. Propriedades Microbiológicas em Processos de Compostagem. In: Damasceno, F. A. (Coord.). **Compost barn como alternativa para pecuária leiteira**. 1ed. Divinópolis: Adelante, 2020, cap. 9, p. 187-206.

PAULA, M. C.; RIBAS, N. P.; MONARDES, H. G.; ARCE, J. E.; ANDRADE, U. V. C. Contagem de células somáticas em amostras de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p. 1303–1308, 2004.

REICH, L. J.; WEARY, D. M.; VEIRA, D. M.; KEYSERLINGK, M. A. G. Effects of sawdust bedding dry matter on lying behavior of dairy cows: A dose-dependent response. **Journal of Dairy Science.**, v.93, p.1561-1565, 2010.

ROMERO-DURÁN, M.A.; SILVA-GARCÍA, O.; et al. Mechanisms of Keap1/Nrf2 modulation in bacterial infections: implications in persistence and clearance. **Frontiers in Immunology.**

SÁ, J. P. N. de; FIGUEIREDO, C. H. A. de; SOUSA NETO, O. L. de; ROBERTO, S. B. de A.; GADELHA, H. S.; ALENCAR, M. C. B. de. Os principais microorganismos causadores da mastite bovina e suas consequências na cadeia produtiva de leite. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, (suppl. 1), v.12, n.1 p. 01-13, 2018.