

**EFEITO DAS FASES REPRODUTIVAS E PERÍODOS DO ANO NA
TEMPERATURA DO CORPO, PRENHEZ E COMPONENTES DO LEITE EM
VACAS DA RAÇA HOLANDÊS PRETO E BRANCO**

FERNANDA LUIZA G. BARBOSA DEAK

**EFEITO DAS FASES REPRODUTIVAS E PERÍODOS DO ANO NA
TEMPERATURA DO CORPO, PRENHEZ E COMPONENTES DO LEITE EM
VACAS DA RAÇA HOLANDÊS PRETO E BRANCO**

FERNANDA LUIZA G. BARBOSA DEAK

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal – Área de concentração: Fisiopatologia Animal.

Orientador:
Prof. Dr. Marcelo George Mungai Chacur

636.089 26 Deak, Fernanda Luiza Guinossi Barbosa.
D278e Efeito das fases reprodutivas e períodos do ano
na temperatura do corpo, prenhez e componentes
do leite em vacas da raça Holandês Preto e Branco.
/ Fernanda Luiza Guinossi Barbosa Deak. –
Presidente Prudente, 2017.
69 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) -
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste,
Presidente Prudente, SP, 2017.

Bibliografia.
Orientador: Prof. Dr. Marcelo George Mungai
Chacur.

1. Bovino.
 2. Reprodução.
 3. Prenhez.
 4. Imagens termográficas.
 5. Período do ano.
- I. Título.

FERNANDA LUIZA GUINOSSI BARBOSA DEAK

**EFEITO DAS FASES REPRODUTIVAS E PERÍODOS DO ANO NA
TEMPERATURA DO CORPO, PRENHEZ E COMPONENTES DO LEITE EM
VACAS DA RAÇA HOLANDES PRETO E BRANCO**

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal - Área de Concentração: Fisiopatologia Animal.

Presidente Prudente, 14 de março de 2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcelo George Mungai Chacur (Orientador)
Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE
Presidente Prudente-SP

Profa. Dr. Luis Carlos Vianna
Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE
Presidente Prudente-SP

Prof. Dr. Carlos Antonio de Miranda Bomfim
Universidade Estadual Paulista – UNESP
Araçatuba-SP

DEDICATÓRIA

Dedico a minha família, que sempre me apoiou.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, o centro e o fundamento de tudo em minha vida, por renovar a cada momento a minha força e disposição e pelo discernimento concedido ao longo dessa jornada.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Marcelo George Mungai Chacur, pelo apoio e pelos ensinamentos transmitidos, os quais levarei para toda minha vida, tornando-me uma profissional cada vez melhor.

Agradeço aos meus pais, Rogéria e Luiz, que sempre me apoiaram, não medindo esforços para me ajudar e me incentivar nos estudos.

Ao meu irmão Mateus, pela amizade, parceria e ajuda.

Ao meu noivo Danilo, pelo amor, companheirismo e paciência de ficar noites em claro estudando comigo.

Agradeço meus colegas de projeto, Camila, Isamara, Gabriela, Caio e Murilo, obrigada pela amizade, disposição e comprometimento que tiveram ao longo desta caminhada.

Agradeço aos professores do Mestrado, que contribuíram de forma direta e indireta na minha formação profissional.

RESUMO

Efeito das fases reprodutivas e períodos do ano na temperatura do corpo, prenhez e componentes do leite em vacas da raça Holandês Preto e Branco

Objetivou-se estudar a influência dos períodos do ano e fases reprodutivas na temperatura de áreas do corpo, prenhez e componentes do leite de vacas da raça Holandês Preto e Branco. Foram utilizadas vacas ($n=24$) da raça Holandês Preto e Branco com idade de $5,0 \pm 1,3$ anos, nas fases reprodutivas: 1 (1-95 dias de prenhez); 2 (96-190 dias de prenhez); 3 (191-285 dias de prenhez); 4 (puerpério) e 5 (vacas não prenhes), mantidas em pastagem de *Urochloa decumbens*, silagem de milho, mistura mineral e água à vontade. O período do experimento foi de 365 dias, período seco (abril a setembro) e chuvoso (outubro a março). Termografia de infravermelho de áreas do corpo foi realizada a cada 28 ± 5 dias, seguido de termometria retal, ultrassonografia para o diagnóstico de prenhez, mensuração de parâmetros climáticos, exame de CMT e coleta de leite para estudo da sua composição. A análise estatística utilizou-se do teste Tukey ao nível de significância de 5% e na comparação estádio Leeds. Para as temperaturas obtidas por termogramas houve diferenças ($P < 0,05$) entre períodos do ano e fases reprodutivas. Para as temperaturas do flanco, úbere lateral e períneo houve diferenças ($P < 0,05$) entre períodos do ano. As temperaturas do úbere, períneo e temperatura retal diferiram para fases reprodutivas ($P < 0,05$). Houve correlações significativas ($P < 0,01$) entre: fase reprodutiva com temperatura retal, globo ocular, mufla, flanco e períneo. O CMT correlacionado com a temperatura das diferentes fases reprodutivas apresentou diferenças significativas ($P < 0,05$) em todas as fases reprodutivas durante a estação chuvosa, houve correlações positivas ($P < 0,01$) entre o CMT e a CCS. Conclui-se que as áreas do corpo examinadas por imagens termográficas apresentaram diferentes temperaturas, mostrando variações fisiológicas que auxiliam na avaliação clínica de cada uma das áreas examinadas. As imagens de termografia por infravermelho também se revelaram sensíveis para detectar alterações de temperatura na superfície da pele em resposta a graus variados de gravidade da infecção da glândula mamária, como sugere o CMT. Os períodos do ano e fases reprodutivas influenciaram na temperatura de áreas do corpo de vacas de leite. O processamento das imagens foi prático, sendo recomendado o exame de termografia na rotina como complementar ao exame clínico.

Palavras-chave: bovino, reprodução, imagens termográficas, mastite.

ABSTRACT

Effect of reproductive phases and periods of the year on body temperature, pregnancy and milk components in cows of the Black and White Dutch breed.

The objective of this study was to study the influence of the periods of the year and reproductive phases on body temperature, pregnancy and milk components of cows of the Black and White Dutch breed. Cows ($n = 24$) of the Black and White Dutch breed aged 5.0 ± 1.3 years were used in the reproductive stages: 1 (1-95 days of pregnancy); 2 (96-190 days of pregnancy); 3 (191-285 days of pregnancy); 4 (puerperium) and 5 (non-pregnant cows), kept on pasture of *Urochloa decumbens*, corn silage, mineral mixture and water at will. The experiment period was 365 days, dry period (April to September) and rainy (October to March). Infrared thermography of body areas was performed every 28 ± 5 days, followed by rectal thermometry, ultrasonography for the diagnosis of pregnancy, measurement of climatic parameters, CMT examination and milk collection to study its composition. Statistical analysis was performed using the Tukey test at the significance level of 5% and in the Leeds stadium comparison. For temperatures obtained by thermograms there were differences ($P < 0.05$) between periods of the year and reproductive phases. For the flank, lateral udder and perineal temperatures there were differences ($P < 0.05$) between periods of the year. The udder, perineum and rectal temperatures differed for reproductive phases ($P < 0.05$). There were significant correlations ($P < 0.01$) between: reproductive phase with rectal temperature, ocular globe, muzzle, flank and perineum. The CMT correlated with the temperature of the different reproductive phases presented significant differences ($P < 0.05$) in all the reproductive phases during the rainy season, there were positive correlations ($P < 0.01$) between CMT and CCS. It was concluded that the areas of the body examined by thermographic images presented different temperatures, showing physiological variations that aid in the clinical evaluation of each of the examined areas. Infrared thermography images have also been shown to detect changes in skin surface temperature in response to varying degrees of severity of mammary gland infection, as CMT suggests. The periods of the year and reproductive phases influenced the temperature of areas of the body of milk cows. The image processing was practical, and routine thermography examination was recommended as a complement to the clinical examination.

Key words: bovine, reproduction, thermographic images, mastitis.

SUMÁRIO

1	ARTIGO CIENTÍFICO A.....	8
2	ARTIGO CIENTÍFICO B.....	27
	ANEXO 1 – PARECER COMITÊ DE ÉTICA E USO DE ANIMAIS EM EXPERIMENTAÇÃO (CEUA).....	50
	ANEXO 2 – NORMAS PARA AUTORES: REPRODUCTION IN DOMESTIC ANIMALS.....	51
	ANEXO 3 – NORMAS PARA AUTORES: SEMINA: CIÊNCIAS AGRÁRIAS.....	59

1 ARTIGO A**1 Efeito das fases reprodutivas e períodos do ano em termogramas de infravermelho de
2 áreas do corpo de vacas da raça Holandês Preto e Branco**

3
4 F. L. G. B. Deak¹, M. G. M. Chacur¹, C. D. Souza¹, I. B. Andrade¹, G. F. Cornacini¹, C. O.
5 Siqueira¹, M. Redivo¹, L. R. A. Gabriel Filho²

6 ¹Laboratório de Reprodução Animal, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade do Oeste
7 Paulista-UNOESTE, Presidente Prudente, Brazil; ²Universidade Estadual Paulista – UNESP,
8 Tupã, Brazil

9 RESUMO

10 Objetivou-se estudar a influência dos períodos do ano e das fases reprodutivas na
11 temperatura de áreas do corpo de vacas da raça Holandês Preto e Branco com termografia
12 digital de infravermelho, um método eficaz e não invasivo. As temperaturas foram obtidas a
13 partir de diversas áreas da superfície do corpo do animal, com intuito de encontrar qual seria a
14 mais fidedigna em relação à temperatura retal, relacionando animais prenhes e não prenhes.
15 Vacas ($n=24$) da raça Holandês Preto e Branco, foram divididas em grupos conforme a fase
16 reprodutiva: 1 (1-95 dias de prenhez); 2 (96-190 dias de prenhez); 3 (191-285 dias de
17 prenhez); 4 (puerpério) e 5 (vacas não prenhes). O período do experimento foi de 365 dias,
18 período seco (abril a setembro) e chuvoso (outubro a março), com aferição de parâmetros a
19 cada 28 dias. Dados termográficos de áreas do corpóreas, termometria retal, ultrassonografia e
20 aferição dos parâmetros climáticos foram coletados no período da manhã entre sete e nove
21 horas. Para as temperaturas obtidas por termogramas houve diferenças ($P <0,05$) entre os
22 períodos do ano e entre as fases reprodutivas. Para as temperaturas obtidas por termogramas
23 do flanco, úbere lateral e períneo houve diferenças ($P <0,05$) entre períodos do ano. As
24 temperaturas do úbere, períneo e temperatura retal diferiram para fase reprodutiva ($P <0,05$).

25 Houve correlações significativas ($P <0,01$) entre: fases reprodutivas com temperatura retal,
26 globo ocular, mufla, flanco e períneo. Conclui-se que as áreas do corpo examinadas por
27 imagens termográficas apresentaram diferentes temperaturas, mostrando variações
28 fisiológicas que auxiliam na avaliação clínica de cada uma das áreas examinadas. Os períodos
29 do ano e as fases reprodutivas influenciaram na temperatura de áreas do corpo de vacas de
30 leite. O processamento das imagens foi prático e bastante rápido sendo recomendado o exame
31 de termografia na rotina como complementar ao exame clínico.

32 **Palavras-chave:** bovino, termograma de infravermelho, reprodução, estação do ano.

33

34 INTRODUÇÃO

35 A temperatura corpórea de vacas é um parâmetro clínico que auxilia no diagnóstico de
36 doenças, avaliação do estado fisiológico, na sanidade e reflete na produtividade, assim a
37 mensuração da temperatura corpórea é utilizada como indicador para identificar animais com
38 febre (Poulsen; McGuirk, 2009, Luzi et al., 2013). Há métodos invasivos que captam e
39 registram a temperatura corporal em bovinos como dispositivos intra-rumen (Rose-Dye et al.,
40 2011) e transmissores implantados no subcutâneo de animais (Georg et al., 2009). Os tipos de
41 termômetro e de técnicas de termometria influenciam na variação de valores aferidos da
42 temperatura retal (Suthar et al., 2011; Naylor et al., 2012).

43 A termografia digital de infravermelho é um exame de imagem com alta acurácia e
44 não invasivo que detecta a radiação infravermelha emitida pela superfície de um objeto ou ser
45 vivo, formando a imagem termográfica ou termograma (Turner, 1991; Eddy et al., 2001). Os
46 termogramas representam a temperatura da superfície de aferição de um objeto, apresentados
47 em diversas cores, as áreas mais quentes são registradas em branco ou vermelho e as mais
48 frias em azul ou preto (Colak et al., 2008). A termografia de infravermelho auxilia no
49 diagnóstico precoce de lesões que causam dor e inflamação, podendo esse equipamento

50 gerador de imagem ser instalado em salas de ordenha para monitorar a temperatura de áreas
51 do corpo de vacas leiteiras (Alsaad et al., 2015) ou acoplados em bebedouros de água para
52 identificar animais e registrar temperaturas da região ocular que apresenta alta correlação com
53 a temperatura retal (Stewart et al., 2005).

54 A termografia digital de infravermelho é utilizada como exame complementar no
55 diagnóstico precoce da mastite subclínica e clínica (Colak et al., 2008; Poikalainen et al.,
56 2012; Berry et al., 2003), avaliação clínica das fases da gestação (Bowers et al., 2009; Schutz
57 et al., 2011) e para detectar aumento da temperatura corporal relacionada à progesterona que
58 tem ação termogênica que eleva a temperatura corporal em vacas prenhas (Suthar et al.,
59 2012).

60 A temperatura ambiente e a umidade relativa do ar são mensuradas no momento do
61 exame de termografia para garantir a melhor acurácia e precisão dos dados coletados por esse
62 exame de imagem (Montanholi et al., 2015).

63 O presente estudo se justifica devido aos poucos dados descritos na literatura a
64 respeito de vacas leiteiras nos trópicos enfocando a temperatura da superfície do corpo das
65 mesmas de acordo com a incidência de chuvas e em distintas fases reprodutivas.

66 A hipótese para o desenvolvimento desta pesquisa se pautou na concepção de que as
67 temperaturas de áreas corpóreas de vacas da raça Holandês Preto e Branca são influenciadas
68 pela distribuição pluviométrica (período chuvoso e período seco) e fases reprodutivas.

69 Objetivou-se estudar a influência dos períodos do ano e das fases reprodutivas na
70 temperatura de áreas do corpo de vacas da raça Holandês Preto e Branco com termografia
71 digital de infravermelho, que é um método eficaz e não invasivo. As temperaturas foram
72 obtidas a partir de diversas áreas da superfície do corpo do animal, com intuito de encontrar
73 qual seria a mais fidedigna em relação a temperatura retal, relacionando animais prenhas e
74 não prenhas.

75 MATERIAL E MÉTODOS

76 Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética e Uso de
77 Animais em Experimentação (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista, sob protocolo 2918.

78

79 *Local do experimento e animais*

80 O experimento foi realizado entre abril de 2015 e março de 2016, no município de
81 Ribeirão dos Índios – SP (Brasil), latitude 21°58'33"S, longitude 51°39'05"W, altitude:
82 386m e clima do tipo tropical, com verão quente e chuvoso; e inverno com menor índice de
83 pluviosidade que no verão (1700mm/anuais).

84 Foram utilizadas vacas ($n=24$) da raça Holandesa Preto e Branca, com idades de
85 $5,0 \pm 1,3$ anos, nas fases reprodutivas: 1(1-95 dias de prenhez); 2 (96-190 dias de prenhez); 3
86 (191-285 dias de prenhez); 4 (puerpério) e 5 (vacas não prenhes). A separação dos animais
87 ocorreu de acordo com a fase reprodutiva em que se encontravam, com média de 4 a 5 fêmeas
88 por grupo; havendo alteração do animal para o próximo grupo à medida que sua fase
89 gestacional se avançava. Todas mantidas em pastagem de *Urochloa decumbens*, recebendo
90 silagem de milho, mistura mineral e água à vontade. O período do experimento foi de 365
91 dias, período seco (abril a setembro) e chuvoso (outubro a março) entre os anos de 2015 e
92 2016.

93

94 *Coleta de dados e exames realizados*

95 Os dados foram coletados e os exames realizados na ordem a seguir, em intervalos de
96 28 ± 5 dias, durante 12 meses, considerando os períodos seco (abril a setembro) e chuvoso
97 (outubro a março) do ano.

98

99 *Termografia digital de infravermelho*

100 A captura de imagens com termografia digital de infravermelho (Flir E40®, Sweden)
101 foi realizada a distância de um metro entre a câmera e o animal e a sequência de captura das
102 imagens ocorreu na mesma ordem para todos os animais em áreas do corpo: globo ocular
103 (ambos), mufla (área entre as narinas) (George et al., 2014) e flanco direito (lateral direita da
104 pelve, 1/3 médio do abdômen, 1/3 ventral do abdômen e tórax), conforme Metzner et al.
105 (2014), períneo (vulva, comissura dorsal da vulva, 1/3 médio da vulva, comissura ventral da
106 vulva, região da tuberosidade isquiática) e glândula mamária (áreas lateral direita e caudal),
107 segundo Talukder et al. (2014). As imagens termográficas (termogramas) das áreas do corpo
108 foram, cuidadosamente, capturadas em áreas limpas e sem incidência direta de luz solar,
109 segundo Hoffman et al. (2013). O foco emissor da câmera termográfica foi direcionado
110 perpendicularmente às regiões anatômicas examinadas, a um metro de distância das mesmas.
111 As imagens termográficas (termogramas) foram processadas pelo programa computacional
112 (*Flir Tools 2.1®*).

113

114 *Ultrassonografia modo B*

115 Exames de ultrassonografia (Aloka 500®, Japan) transretal com transdutor de 5MHz
116 foram realizados para diagnosticar a prenhez com base no dia da inseminação artificial e
117 confirmar a continuidade da mesma.

118

119 *Parâmetros Climáticos*

120 Os parâmetros climáticos: *wet bulb globe temperature* (WBGT) que apresenta em
121 graus Celsius a sensação térmica, e leva em consideração a captação dos dados da temperatura
122 do globo negro (capta a radiação térmica emitida), temperatura ambiente e umidade relativa
123 do ar. Tais parâmetros foram mensurados em cada uma das coletas a cada hora (entre as sete e
124 nove horas), com globo termômetro digital portátil (Instrutemp HT30®, Brazil).

125 *Análise Estatística*

126 A proposta metodológica geral da análise de variância realizada neste trabalho, baseia-
127 se na análise das variáveis aferidas por meio de dois fatores principais denominados períodos
128 do ano (seco e chuvoso) e fases de gestação, sendo o primeiro com dois níveis e o segundo
129 como cinco níveis estabelecendo assim um experimento fatorial 2 x 5. Ademais, foi realizada
130 análise da existência de interação entre tais fatores para cada variável. Quanto a interação, foi
131 constatada análise de variância, comparando-se as vezes de cada variável, entre cada um dos
132 níveis de um dos fatores. Tais comparações foram feitas utilizando-se o teste de Tukey ao
133 nível de significância de 5%. Por outro lado, para as variáveis que não apresentaram
134 interação, foram citadas comparações contestantes entre os resultados dos autores, que
135 apresentaram diferenças significativas. Vale ressaltar, que houveram variáveis apresentando
136 diferenças entre médias em somente um fator. Neste caso foi feita a comparação estádio
137 Leeds somente neste fator. Por outro lado, também houveram variáveis que apresentaram
138 diferenças nos dois fatores e assim foram realizadas comparações em cada um desses fatores.
139 Por fim, houve variáveis que apresentaram interação. Somente neste caso foi realizada a
140 análise, fazendo comparações em um dos fatores para cada nível do outro fator.

141

142 RESULTADOS

143 Na tabela 1 estão apresentadas as médias para os parâmetros climáticos (três formas de
144 afeição) e umidade pesquisadas de acordo com os períodos chuvoso e seco.

145 As variáveis temperatura de flanco, úbere lateral, úbere caudal e períneo durante os
146 momentos de coleta, as médias e os coeficientes de variação são apresentados na Tabela 2.
147 Houve diferença ($P < 0,05$) entre coletas, fases reprodutivas e períodos do ano. Para as
148 temperaturas obtidas por imagens termográficas (termogramas) (Figuras 1, 2 e 3) houve
149 diferenças ($P < 0,05$) entre coletas para as áreas do corpo: flanco, úbere lateral, úbere caudal e

150 períneo. Com relação ao úbere lateral e fases reprodutivas, houve diferença ($P < 0,05$). Para a
151 temperatura do flanco, úbere lateral e períneo, houve diferença ($P < 0,05$) entre períodos do
152 ano (Tabela 2).

153 As temperaturas do úbere, períneo e temperatura retal diferiram conforme a fase
154 reprodutiva ($P < 0,05$) (Tabela 3).

155 Na tabela 4, estão representadas as comparações entre o flanco e úbere confrontados
156 com os períodos seco e chuvoso; revelando diferenças ($P < 0,05$) entre os períodos.

157 Houve correlações significativas ($P < 0,01$) entre: fase reprodutiva e temperatura retal;
158 temperatura retal, globo ocular, mufla, flanco e períneo (Tabela 5).

159

160 DISCUSSÃO

161 Quantitativamente foram obtidos dados da temperatura do globo ocular, mufla e flanco
162 como uma medida de temperatura corporal em vacas prenhas da raça Holandesa, conforme a
163 fase reprodutiva. As temperaturas foram obtidas a partir de diversas áreas da superfície do
164 corpo do animal, com intuito de encontrar qual seria a mais fidedigna em relação a
165 temperatura retal. No presente trabalho, a temperatura que se mostrou mais aproximada da
166 temperatura retal foi a temperatura do flanco.

167 As imagens termográficas deste estudo mostraram similaridade em relação aos
168 métodos utilizados com Alejandro et al. (2014), Metzner et al. (2014) e Talukder et al. (2015)
169 e Chacur et al. (2016), que utilizaram áreas e pontos para mensurar a temperatura da
170 superfície da pele; realizando o mesmo exame não invasivo e relatando que o mesmo possui
171 acurácia.

172 A temperatura da superfície do corpo sofre influência do fluxo sanguíneo dos tecidos,
173 do metabolismo e da evaporação pelo suor, podendo-se ao mensurar a temperatura, qualificar
174 os estágios fisiológicos de saúde dos tecidos e as oscilações por fatores externos (temperatura

175 ambiente, umidade relativa do ar e ação do vento) (Nikkhah, 2015). A espessura, densidade
176 da pele e a pelagem das diferentes raças bovinas, também devem ser considerados fatores que
177 influenciam no estudo da imagem infravermelha na análise de temperaturas (Gonçalves,
178 2013), pelagens claras refletem o calor e as escuras absorvem o mesmo; portanto deve-se
179 evitar captar imagens de animais expostos diretamente ao sol para obter imagens
180 termográficas autênticas.

181 Em relação aos parâmetros climáticos, o presente estudo revelou que houve diferenças
182 entre estações do ano, corroborando Berry et al. (2013) que relataram correlações positivas
183 entre as temperaturas mensuradas com termografia e a temperatura ambiente e temperatura do
184 úbere.

185 No presente trabalho, as mensurações de temperaturas foram obtidas com uma câmera
186 portátil. Um estudo publicado por Schaefer et al. (2012) explora a utilização de uma imagem
187 térmica utilizando câmera anexa a uma estação de água, que é capaz de digitalizar o olho do
188 animal. Dessa forma, como os animais visitam o cocho de água diariamente, auxiliaria o
189 produtor a identificar animais com temperatura elevadas. Um animal poderia então ser
190 identificado e examinado. A validação da temperatura do globo ocular como uma aceitável e
191 precisa medida da temperatura retal foi descrita como medida fidedigna da temperatura
192 corpórea. (Melero et al., 2015).

193 Para as regiões flanco, úbere lateral, úbere caudal e períneo houve variação de
194 temperatura em relação as coletas realizadas; tais temperaturas foram semelhantes as descritas
195 por Gil et al. (2013) e Chacur et al. (2016). Com relação a variável úbere lateral e terço de
196 gestação, as variações de temperatura foram de $33,1 \pm 3,9^{\circ}\text{C}$; resultados similares foram
197 obtidos por Schaefer et al. (2012) e Okada et al. (2013). Uma boa correlação entre a
198 temperatura da superfície do úbere e retal foi encontrada para ambos os quartos traseiros

199 (Metzner et al., 2014). Em relação ao períneo houve uma correlação entre sua temperatura e a
200 mufla, que são consistentes com Talukder et al. (2014).

201 As fases reprodutivas influenciaram na variação de temperaturas dos animais,
202 revelando que animais prenhes apresentaram temperatura corporal mais alta, em relação às
203 vacas não prenhes. Suthar et al. (2012) e Rensis et al. (2015) relataram que animais prenhes
204 possuem maior concentração de progesterona na corrente sanguínea, tendo esse hormônio
205 ação termogênica, elevando a temperatura corporal de vacas prenhes. As imagens
206 infravermelhas deste estudo foram capazes de detectar variações de temperatura corporal
207 comparando-se vacas prenhes com não prenhes. As variações na temperatura corporal foram
208 de $34,0 \pm 2,4^{\circ}\text{C}$, similar aos obtidos por Gil et al. (2001) e Gabor (2016) que compararam
209 temperaturas de animais prenhes e não prenhes.

210 Conclui-se que as áreas do corpo examinadas por imagens termográficas apresentaram
211 diferentes temperaturas, mostrando variações fisiológicas que podem auxiliar na avaliação
212 clínica das áreas examinadas. As temperaturas das áreas do corpo de vacas holandesas
213 examinadas obtiveram correlações positivas com a temperatura retal, porém de acordo com
214 este estudo a temperatura mais fidedigna em relação a retal é a temperatura por infravermelho
215 do flanco. Os períodos do ano e as fases reprodutivas influenciaram na temperatura de áreas
216 do corpo de vacas holandesas preto e branco. A imagem termográfica do flanco auxilia no
217 diagnóstico de prenhez quando se trata de fêmeas prenhas e vazias. A captura e análise das
218 imagens foi prático e rápido sendo recomendado o exame de termografia na rotina como
219 complementar ao exame clínico.

220

221 AGRADECIMENTOS

222 Ao CNPq pelo auxílio financeiro.

223

224 CONFLITO DE INTERESSE

225 Nenhum dos autores tem qualquer conflito de interesses a declarar.

226

227 CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

228 M. G.M. Chacur projetou, orientou e participou do estudo, F. L. G. B. Deak projetou e
229 participou do estudo, C. D. Souza, I. B. Andrade, C. O. Siqueira, M. Redivo, G. F. Cornacini
230 colaboraram na coleta de dados, L.R.A. Gabriel Filho, realizou as análises estatísticas.

231

232 REFERÊNCIAS

233 Alejandro, M., Romero, G., Sabater, J.M., Díaz, J.R. (2014). Infrared thermography as a tool
234 to determine teat tissue changes caused by machine milking in Murciano-Granadina goats.

235 Livestock Science, 160, 178-185.

236 Alsaad, M., Schaefer, A.L., Büscher, W., Steiner, A. (2015). The role of infrared
237 thermography as a non-invasive tool for the detection of lameness in cattle. Sensors, 15,
238 14513-14525.

239 Berry, R.J., Kennedy, A.D., Scott, S.L., Kyle, B.L., Schaefer, A.L. (2003). Daily variation in
240 the udder surface temperature of dairy cows measured by infrared thermography: potential for
241 mastitis detection. Canadian Journal of Animal Science, 83, 687-693.

242 Berry, R.J., Kennedy, A.D., Scott, S.L., Kyle, B.L., Schaefer, A.L. (2013). Early detection of
243 mastitis using infrared thermography in dairy cows. Journal of Dairy Science, 91, 4244-4248.

244 Bowers, S., Gandy, S., Anderson, B., Ryan, P., Willard, S. (2009). Assessment of pregnancy
245 in the late-gestation mare using digital infrared thermography. Theriogenology, 72, 372-377.

246 Chacur, M.G.M., Bastos, G.P., Vivian, D.S., Silva, L., Chiari, L.N.F., Araujo, J.S., Souza,
247 C.D., Gabriel Filho, L.R.A. (2016). Use of infrared thermography to evaluate the influence of

- 248 the of Climatic Factors in the Reproduction and Lactation of Dairy Cattle. *Acta Scientiae*
249 *Veterinariae*, 44, 1412-1421.
- 250 Colak, A., Polat, B., Okumus, Z., Kaya, M., Yanmaz, L.E., Hayirli, A. (2008). Short
251 communication: Early detection of mastitis using infrared thermography in dairy cows.
252 *Journal of Dairy Science*, 91, 4244-4252.
- 253 Eddy, A.L., Van Hoogmoed, L.M., Snyder, J.R. (2001). The role of thermography in the
254 management of equine lameness. *The Veterinary Journal*, 162, 172-181.
- 255 Gabor, G., Kastelik, J.P., Abonyi-Toth, Z., Gabor, P., Endrodi, T., Balogh, O.G. (2016).
256 Pregnancy loss in dairy cattle: relationship of ultrasound, blood pregnancy specific protein B,
257 progesterone and production variables. *Reproduction in Domestic Animals*, 51, 467-473.
- 258 Georg, H., Ude, G., Schwalm, A., Wenderdel, B. (2009). Investigation on temperature sensing
259 injectable transponders for electronic animal identification and evaluation of suitable injection
260 sites with bull calves. *Landbauforschung Voelkenrode*, 59, 287-293.
- 261 George, W.D. Godfrey, R.W., Ketring, R.C., Vinson, M.C., Willard, S.T. (2014).
262 Relationship among eye and muzzle temperatures measured using digital infrared thermal
263 imaging and vaginal and rectal temperatures in hair sheep and cattle. *Journal of Animal*
264 *Science*, 92, 4949-4955.
- 265 Gil, Z., Adamczyk, K., Zapletal, P., Frelich, J., Ślachta, M., Andreasik, A. (2013). Impact of
266 the location of the dairy cows in the barn on their body surface temperature. *Journal of*
267 *Central European Agriculture*, 14, 228-237.
- 268 Gil, Z., Kural, J., Szarek, J., Wierzchós, E. (2001). Increase in milk and body temperature of
269 cows as a sign of embryo entry into the uterus. *Theriogenology*, 56, 685-697.
- 270 Gonçalves, C.S.M. (2013). Uso da termografia no diagnóstico precoce da doença respiratória
271 bovina em explorações de engorda. Lisboa – Portugal. Dissertação (Mestrado em Medicina
272 Veterinária) Faculdade de Medicina Veterinária. 108f.

- 273 Hoffman, G., Schmidt, M., Ammon, C., Rose-Meierhofer, S., Burfeind, O., Heuwieser, W.,
274 Berg, W. (2013). Monitoring the body temperature of cows and calves using video recordings
275 from an infrared thermography camera. Veterinary Research Communications, 37, 91-99.
- 276 Luzi, F., Mitchell, M., Nanni, C.L., Redaelli, V. (2013). Thermography: current status and
277 advances in livestock animals and in veterinary medicine. Brescia, Italy: Fondazione
278 Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche.
- 279 Melero, M., Rodriguez-Prieto, V., Rubio-Garcia, A., Garcia-Parraga, D., Sanchez-Vizcaino,
280 J.M. (2015). Thermal reference points as an index for monitoring body temperature in marine
281 mammals. BMC Research Notes, 8, 411.
- 282 Metzner, M., Sauter-Louiz, C., Seemueller, A., Petzl, W., Klee, W. (2014). Infrared
283 thermography of the udder surface of dairy cattle: Characteristics, methods, and correlation
284 with rectal temperature. The Veterinary Journal, 199, 57-62.
- 285 Montanholi, Y.R., Lim, M., Macdonald, A., Smith, B.A., Goldhawk, C., Schwartzkopf-
286 Genswein, K., Miller, S.P. (2015). Technological, environmental and biological factors:
287 referent variance values for infrared imaging of the bovine. Journal of Animal Science and
288 Biotechnology, 6, 27.
- 289 Nikkhah, A. (2015). Infrared Termography as a Prognostic Live stock. Agrotechnology: A
290 Critique. Agrotech. 4, 112.
- 291 Naylor, J.M., Streeter, R.M., Torgerson, P. (2012). Factors affecting rectal temperature
292 measurement using commonly available digital thermometers. Research in Veterinary
293 Science, 92, 121-123
- 294 Okada, K., Takemura, K., Sato, S. (2013). Investigation of Various Essential Factors for
295 Optimum Infrared Thermography. Journal of Veterinary Medical Science, 75, 1349-1353.

- 296 Poikalainen, V., Praks, J., Veermäe, I., Kokin, E. (2012). Infrared temperature patterns of
297 cow's body as an indicator for health control at precision cattle farming. *Agronomy Research*
298 *Biosystem Engineering*, 1, 187-194.
- 299 Poulsen, K.P., Mcguirk, S.M. (2009). Respiratory disease of the bovine neonate. *Veterinary*
300 *Clinics of North America: Food Animal Practice*, 25, 121-137.
- 301 Rensis, F., Garcia-Isprierto, I., López-Gatuis, F. (2015). Seasonal heat stress: Clinical
302 implications and hormone treatments for the fertility of dairy cows. *Theriogenology*, 84, 659-
303 666.
- 304 Rose-Dye, T.K., Burciaga-Robles, L.O., Krehbiel, C.R., Step, D.L., Fulton, R.W., Confer,
305 A.W., Richards, C.J. (2011). Rumen temperature change monitored with remote rumen
306 temperature boluses after challenges with bovine viral diarrhea virus and Mannheimia
307 haemolytica. *Journal of Animal Science*, 89, 1193-1200.
- 308 Schaefer, A.L., Cook, N.J., Bench, C., Chabot, J.B., Colyn, J., Liu, T., Okine, E.K., Stewart,
309 M., Webster, J.R. (2012). The non-invasive and automated detection of bovine respiratory
310 disease onset in receiver calves using infrared thermography. *Research in Veterinary Science*,
311 93, 928-935.
- 312 Schutz, K.E., Rogers, A.R., Cox, N.R., Webster, J.R., Tucker, C.B. (2011). Dairy cattle prefer
313 shade over sprinklers: effects on behavior and physiology. *Journal of Dairy Science* 94, 273-
314 283.
- 315 Stewart, M. Webster, J.R., Schaefer, A.L., Cook, N.J., Scott, S.L. (2005). Infrared
316 thermography as a non-invasive tool to study animal welfare. *Animal Welfare* 14, 319-325.
- 317 Suthar, V.S., Burfeind, O., Bonk, S., Dhami, A.J., Heuwieser, W. (2012). Endogenous and
318 exogenous progesterone influence body temperature in dairy cows. *Journal of Dairy Science*,
319 95, 2381-2389.

- 320 Suthar, V.S., Burfeind, O., Patel, J.S., Dhami, A.J., Heuwieser, W. (2011). Body temperature
 321 around induced estrus in dairy cows. American Dairy Science Association. 94, 2368-2373.
- 322 Talukder, S., Thomson, P.C., Kerrisk, K.L., Clark, C.E.F., Celi, P. (2014). Evaluation of
 323 infrared thermography body temperature and collar-mounted accelerometer and acoustic
 324 technology for predicting time of ovulation of cows in a pasture-based system.
 325 Theriogenology. 83, 739-748.
- 326 Talukder, S., Thomson, P.C., Kerrisk, K.L., Clark, C.E.F., Celi, P. (2015). Evaluation of
 327 infrared thermography body temperature and collar-mounted accelerometer and acoustic
 328 technology for predicting time of ovulation of cows in a pasture-based system.
 329 Theriogenology, 83, 739-748.
- 330 Turner, T.A. (1991). Thermography as an aid to the clinical lameness evaluation. Veterinary
 331 Clinics of North America Equine Practice, 7, 311-338.

332

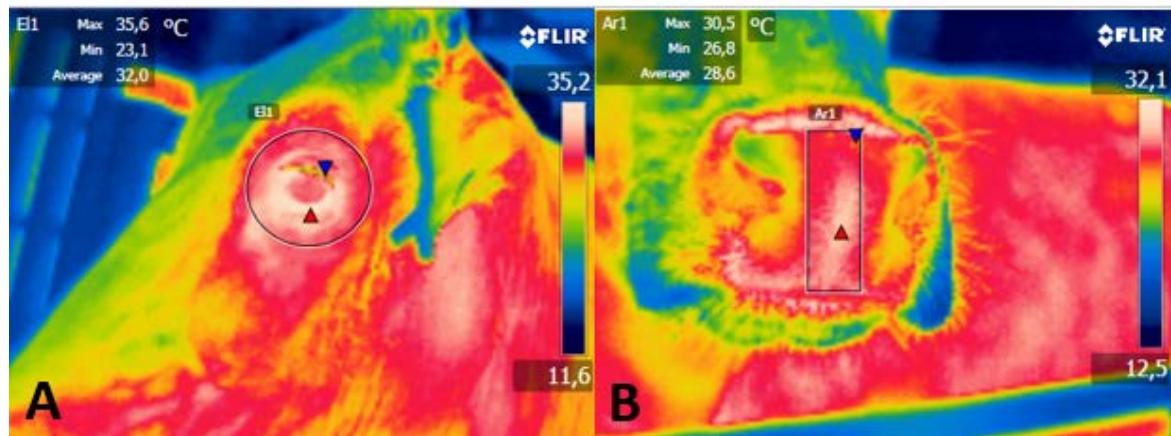


Figura 1 – Termogramas com dados das temperaturas obtidos com o programa computacional nas áreas examinadas: A. Globo Ocular. B. Mufla.

333

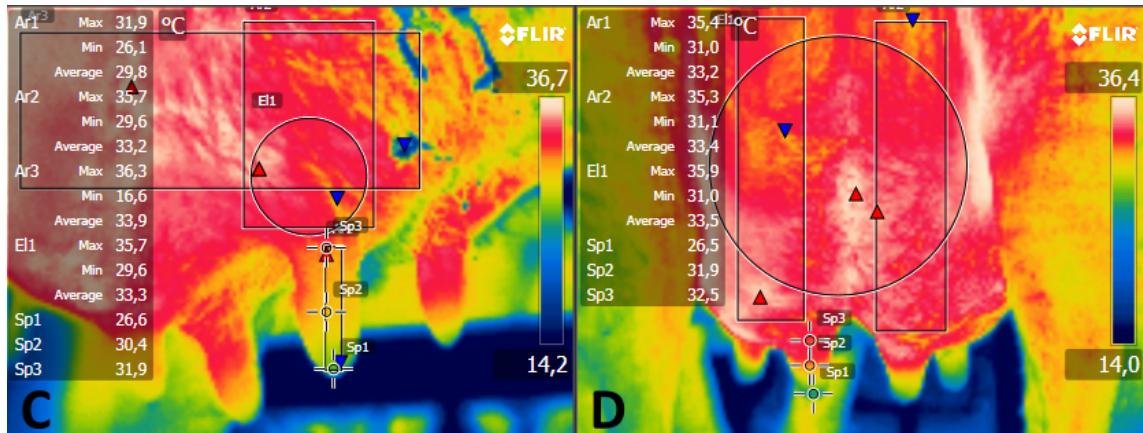


Figura 2 – Termogramas com dados das temperaturas obtidos com o programa computacional nas áreas examinadas: C. Lateral direita do quarto mamário anterior (área demarcada) e dos tetos anterior: base, 1/3 médio e extremidade (pontos demarcados). D. Área caudal dos quartos mamários (áreas demarcadas) e dos tetos: base, 1/3 médio e extremidade (pontos demarcados).

334

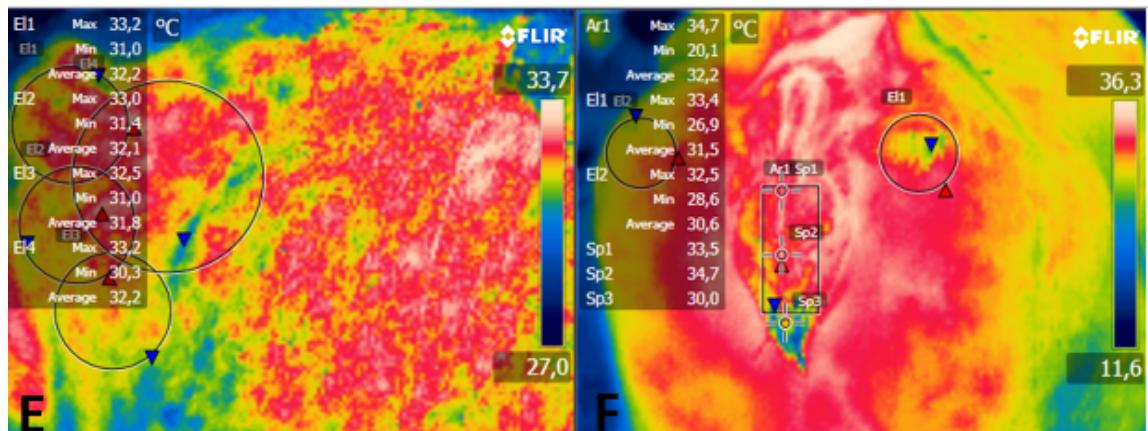


Figura 3 – Termogramas com dados das temperaturas obtidos com o programa computacional nas áreas examinadas: E. Lateral direita da pelve, 1/3 médio do abdômen, 1/3 ventral do abdômen e tórax (áreas demarcadas). F. Vulva (área demarcada), comissura dorsal da vulva, 1/3 médio da vulva, comissura ventral da vulva (pontos demarcados), região da tuberosidade isquiática (áreas demarcadas).

335

336

Tabela 1. Médias para os parâmetros climáticos nos períodos do ano.

Parâmetros climáticos	Período do ano	
	Chuvoso	Seco
WBGT	22,5±1,9	A 20±4,4 b
Temperatura ambiente	25,9±3,1	A 23,9±5,1 b

Temperatura do globo negro	26,1±3,4	A	23,8±5,5	b
Umidade relativa do ar	66,3±14	A	58,5±14,5	b

337 *Legenda: Letras minúsculas diferentes nas linhas ($P <0,05$). WBGT: wet bulb globe*

338 *temperature.*

339

340 **Tabela 2.** Médias das variáveis por coleta, fase reprodutiva e período do ano.

		Flanco	Úbere Lateral	Períneo	Úbere caudal	
	1	35,5±1,4	a	35,2±1,6	ab	35,2±2,3
	2	34±0,7	def	34,3±1,4	cd	34,4±1,7
	3	33,5±1,5	fg	34,1±1,6	cd	34,2±3
	5	31,1±1,9	h	32,1±2,5	E	31,6±4,5
	6	34,4±1,4	cd	35,1±1,6	ab	33,8±2,6
Coleta	7	33,1±0,9	g	33,9±1,6	D	32,8±3
	8	33,8±0,8	ef	34,2±1,6	cd	34,5±2,2
	9	35,1±0,8	ab	35,6±1,3	A	35,7±1,7
	10	34,6±1,1	bc	34,9±1,5	B	35±2
	11	33,6±1,3	fg	34,2±1,5	cd	34,1±2,6
	12	34,3±1,1	cde	34,5±1,7	bc	34,6±2,2
					abc	35,5±1,4
					Abc	

	1	33,9±1,5	a	34,3±1,7	B	34±2,6	ab	34,9±1,7	Ab
	2	33,9±1,8	a	34,2±2,1	B	34,4±2,7	a	35±1,8	Ab
Fase reprodutiva	3	33,9±1,6	a	34,5±1,6	ab	34,6±2,7	a	34,8±1,5	Ab
	4	34,1±1,3	a	34,9±1,6	A	34,2±2,5	a	35,1±2,4	A
	5	33,1±1,9	b	33,8±1,8	C	33,4±3,9	b	34,6±1,7	B
Período do ano	Chuvoso	34,2±1,2	a	34,6±1,6	A	34,5±2,4	a	35±1,8	A
	Seco	33,3±2	b	33,9±2,2	b	33,5±3,4	b	34,8±1,9	B

341 *Legenda: Coletas de 1 a 12 com intervalo de 28±5 dias entre elas. Fase Reprodutiva:*

342 1: 0-95 dias de prenhez; 2: 96-190 dias de prenhez; 3: 191 – 285 dias de prenhez; 4:

343 Puerpério; 5: não prenhe. Letras diferentes nas colunas ($P <0,05$).

344

345 **Tabela 3.** Médias de temperaturas do úbere, retal, períneo e flanco nas diferentes fases
346 reprodutivas.

Fase reprodutiva	1	2	3	4	5	
Úbere	36,1±1,2	ab	36,6±1,0	ab	36,7±0,9	ab
Retal	37,8±0,4	b	38,0±0,5	ab	38,0±0,4	ab
Períneo	35,2±1,2	ab	35,3±1,4	Ab	35,2±1,2	ab
Flanco	34,24±1,5	ab	34,25±1,7	ab	34,27±1,6	ab
	34,42±1,2	a	33,46±1,9	b		

347 *Legenda: Letras diferentes nas linhas ($P <0,05$). Fase reprodutiva: 1: 0-95 dias de prenhez;*

348 2: 96-190 dias de prenhez; 3: 191 – 285 dias de prenhez; 4: Puerpério; 5: Não prenhe. Letras

349 diferentes nas colunas ($P <0,05$).

350 **Tabela 4.** Médias de temperaturas de áreas do corpo nos diferentes períodos do ano.

Período do ano	Seco	Chuvoso
Flanco média	33,69±1,9 a	34,48±1,2 b
Flanco-máxima.	33,32±2,0 a	34,17±1,2 b
Úbere lateral média	34,22±1,6 a	34,8±1,2 b
Úbere lateral máxima	35,72±1,4 a	35,96±0,9 b

351 *Legenda: Letras diferentes nas linhas ($P <0,05$). Fase reprodutiva: 1: 0-95 dias de prenhez;*
 352 *2: 96-190 dias de prenhez; 3: 191 – 285 dias de prenhez; 4: Puerpério; 5: não prenhe. Letras*
 353 *diferentes nas colunas ($P <0,05$).*

354

355 **Tabela 5-** Correlações entre fases reprodutivas e temperatura retal; temperaturas de áreas do
 356 corpo e temperatura retal.

	Temp. Retal
Fase reprodutiva	0,215*
Globo ocular	0,316*
Mufla	0,234*
Lateral direita da pelve	0,352*
1/3 médio do abdômen	0,347*
1/3 ventral do abdômen	0,331*
Flanco	Tórax
	0,377*

	Máxima	0,368*
	Mínima	0,342*
	Média	0,357*
	Tuberossidade isquiática	0,256*
	<i>Médias de temperatura da vulva</i>	0,324*
	<i>1/3 dorsal da vulva</i>	0,213*
	<i>1/3 médio da vulva</i>	0,218*
	<i>Fossa clitoriana</i>	0,273*
	Máxima	0,280*
	Mínima	0,225*
Períneo	Média	0,331*

357 Legenda: * ($P < 0,01$).

2 ARTIGO CIENTÍFICO B

1 Termografia de infravermelho da glândula mamária, CMT, células somáticas e componentes do leite 2 de vacas Holandesa Preto e Branca em diferentes fases reprodutivas

3 F. L. G. B. Deak¹, M. G. M. Chacur¹, C. D. Souza¹, I. B. Andrade¹, G. F. Cornacini¹, C. O. Siqueira¹, M.
4 Redivo¹, L. S. L. S. Reis¹, L. R. A. Gabriel Filho²

5 ¹Universidade do Oeste Paulista-UNOESTE, Presidente Prudente, Brazil; ²Universidade Estadual Paulista –
6 UNESP, Tupã, Brazil

7

8 RESUMO

9 A mastite causa queda na produção de leite e perdas econômicas. O diagnóstico precoce da mastite é
10 realizado através de exames qualitativos e quantitativos do leite, exames não invasivos e de acurácia, como a
11 termografia de infravermelho utilizada na detecção da mastite subclínica. Objetivou-se estudar a inter-
12 relação entre o CMT, a CCS, componentes do leite e as temperaturas aferidas pela termografia por
13 infravermelho na detecção da mastite subclínica em vacas da raça Holandesa Preto e Branca em diferentes
14 fases reprodutivas. Utilizaram-se vacas ($n=24$) da raça Holandesa Preto e Branco, divididas em grupos: 1 (1-
15 95 dias de prenhez); 2 (96-190 dias de prenhez); 3 (191-285 dias de prenhez); 4 (puerpério) e 5 (vacas não
16 prenhes). O período do experimento foi de 365 dias, época seca (abril a setembro) e chuvosa (outubro a
17 março). Coletas de leite foram realizadas a cada 28 ± 5 dias para o CMT, CCS e componentes do leite, bem
18 como exames de termografia da glândula mamária e dados de parâmetros climáticos. Para a análise de dados,
19 utilizou-se o teste de Tukey a 5% e para comparar as distintas fases reprodutivas, o teste de Leeds. Houve
20 diferenças ($P < 0,05$) entre as fases reprodutivas e os componentes do leite. A época do ano influenciou de
21 forma significativa ($P < 0,05$) nos componentes do leite. Conclui-se que as imagens de termografia por
22 infravermelho são sensíveis para detectar alterações de temperatura na superfície da pele em
23 resposta a graus variados de inflamação da glândula mamária, como sugere o CMT, e utilizada
24 como uma ferramenta não invasiva, as imagens infravermelhas podem ser empregadas para
25 rastreamento de vacas leiteiras para mastite.

26 **Palavras-chave:** bovino, imagens termográficas, prenhez, período do ano.

27

28 INTRODUÇÃO

29 Dentre as afecções em vacas de leite, a mastite se destaca pela incidência e perdas econômicas
30 (DADPASAND et al., 2012). A mastite é uma doença que causa inflamação da glândula mamária e sua
31 intensidade depende da interação entre fatores relacionados com o animal, o homem, o ambiente e a presença
32 de agentes patogênicos que desencadeiam o processo inflamatório. Os agentes causadores da mastite são
33 bactérias, fungos, vírus e algas (RADOSTITS et al., 2002). Devido à reação imune, os leucócitos chegam na
34 glândula mamária, o que resulta em um aumento perceptível na contagem de células somáticas (CCS) no
35 leite. A CCS no leite de quartos mamários não infectados deve ser inferior a 100.000 células/ml (KOECK et
36 al., 2012). A mastite provoca perdas econômicas na cadeia produtiva do leite; piorando sua qualidade;

37 aumentando o uso de medicamentos veterinários, eleva a taxa de descarte de animais e, consequentemente
38 aumenta os custos de produção do leite (CHA et al., 2010; AKERS, NICKERSON, 2011).

39 Dependendo da sua gravidade e sintomas a mastite pode ser classificada em aguda ou crônica e em
40 clínica ou subclínica. Em sua forma clínica ou aguda, a mastite causa alteração visível no leite, como flocos
41 ou a formação de coágulos, caracterizada adicionalmente por sinais clínicos como: dor, rubor e edema do
42 úbere. Já a mastite subclínica não apresenta alterações macroscópicas no leite ou úbere; contudo, há
43 alterações nos componentes do leite e uma CCS elevada pode ser observada. A mastite crônica refere-se a
44 uma infecção do úbere, que se manifesta por um longo período de tempo, muitas vezes acompanhada por
45 sinais clínicos periódicos (KELLY, 2002; HAMANN, 2005).

46 Alguns biomarcadores e testes têm sido propostos para detectar a mastite subclínica (VIGUIER et
47 al., 2009); podendo citar a contagem de células somáticas (CCS) e o *California Mastitis Test* (CMT). Aliar
48 estes testes a avaliação de imagens infravermelhas é inovador, uma vez que a sensibilidade da câmera
49 termográfica ajuda no diagnóstico de lesões antes mesmo do animal mostrar sinais de dor e inflamação,
50 apresentando potencial para ser um instrumento útil na detecção precoce de patologias (ALSAOOD et al.,
51 2015). Uma das principais razões para usar a termografia infravermelha na identificação de inflamações nos
52 animais é que, se existe inflamação, haverá elevação térmica identificada na imagem termográfica
53 (termograma), com variações na cor e padrão térmico das imagens e seus gradientes térmicos (SCHAEFER
54 et al., 2013).

55 Os sinais clínicos mais comuns na fase inicial da inflamação são rubor, devido à intensa
56 vascularização e fluxo sanguíneo, dor (hipersensibilidade), edema e hipertermia (CHEVILLE, 1999). A
57 temperatura da superfície da pele reflete o metabolismo e a circulação do tecido subjacente (BERRY et al.,
58 2003), que está sob o controle do sistema nervoso simpático e neurônios noradrenérgicos na glândula
59 mamária (PAULRUD et al., 2005).

60 De acordo com Auldist (2002), as mais graves alterações no leite por causa de mastite subclínica,
61 além da alta CCS, são teores elevados de ácidos graxos livres, redução de caseína e lactose; e alterações na
62 concentração de sais minerais como: sódio, cloreto, potássio e cálcio; e aumento do pH do leite.

63 As imagens infravermelhas são sensíveis para detectar mudanças na temperatura corporal, em casos
64 de laminitite em vacas de leite (NIKKHAH et al., 2005), auxiliam na determinação da eficiência alimentar em
65 bovinos (MONTANHOLI et al., 2010), detectam claudicação em bovinos (ALSAOOD et al., 2015), e
66 auxiliam no diagnóstico de doenças inflamatórias, como a mastite (COLAK et al., 2008; WENZ et al., 2011).
67 Um conjunto de aplicações de imagens infravermelhas em animais também foi descrito por Luzi et al.
68 (2013). Além de ser um método não invasivo, indolor, rápido e preciso na monitoração de temperaturas, não
69 causa exposição à radiação (EDDY et al., 2001; SCHAEFER et al., 2013).

70 A mensuração da temperatura do corpo dos bovinos utilizando termômetro retal é o método mais
71 comum empregado em fazendas leiteiras para identificar e examinar animais doentes, principalmente por
72 causa da facilidade de uso e custo baixo (BURFEIND et al., 2010). No entanto, uma desvantagem de se usar
73 a temperatura retal para monitorar a saúde do rebanho é a mão de obra necessária, já que o processo de

74 mensuração da temperatura é realizado individualmente, levando tempo e causando potencial desconforto ao
75 animal.

76 Há relatos de que as imagens infravermelhas foram sensíveis para detectar diferenças na temperatura
77 da pele do úbere, em relação à classificação do grau de gelatinização no exame de CMT (WENZ et al.,
78 2011). Esta classificação do grau de gelatinização do CMT aumenta à medida que se eleva a CCS
79 (GOYACHE et al., 2005).

80 Objetivou-se estudar a inter-relação entre o CMT, a CCS, componentes do leite e as temperaturas
81 aferidas pela termografia por infravermelho no diagnóstico da mastite subclínica em vacas da raça Holandesa
82 Preto e Branca em distintas fases reprodutivas.

83

84 MATERIAL E MÉTODOS

85 Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética e Uso de Animais em
86 Experimentação (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista, sob protocolo 2918.

87

88 Local do experimento e animais

89 O experimento foi realizado entre abril de 2015 e março de 2016, no município de Ribeirão dos
90 Índios – SP (Brasil), latitude 21°58'33"S, longitude 51°39'05"W, altitude: 386m e clima do tipo tropical,
91 com verão quente e chuvoso; e inverno com menor índice de pluviosidade que no verão (1700 mm/anuais).

92 Foram utilizadas vacas ($n=24$) da raça Holandês Preto e Branco, com idades de $5,0 \pm 1,3$ anos, em
93 diferentes fases reprodutivas e de lactação. A produção de leite dos animais era de 16,8 kg/leite/dia em
94 média. Os animais foram alojados em pasto de *Urochloa decumbens*, recebendo sal mineral, silagem de
95 milho, concentrado peletizado e água à vontade. Durante a ordenha foram coletadas amostras individuais de
96 cada animal para realização da CCS e mensuração dos componentes do leite. Grupos experimentais com
97 base na fase reprodutiva foram divididos em: 1 (0-95 dias), 2 (96-190 dias), 3 (191-285 dias), 4 (puerpério) e
98 5 (vacas não prenhes). A separação dos animais ocorreu de acordo com a fase reprodutiva em que se
99 encontravam, com média de 4 a 5 fêmeas por grupo; havendo alteração do animal para o próximo grupo à
100 medida que sua fase gestacional se avançava.

101 Este estudo prolongou-se por 365 dias, com intervalo médio de 28 ± 5 dias entre as coletas, durante os
102 períodos seco (abril a setembro) e chuvoso (outubro a março) do ano, com animais ordenhados duas vezes ao
103 dia.

104

105 Termografia Digital de Infravermelho

106 A captação das imagens infravermelhas foi realizada em todos os animais durante a ordenha da
107 manhã e na respectiva ordem: ao entrar no sistema de ordenha as imagens da glândula mamária (vista lateral
108 direita e caudal) segundo Talukder et al. (2014) eram capturadas, após aferida a temperatura retal com
109 termômetro clínico digital, realizado o teste CMT e só então iniciada a ordenha. É importante caracterizar
110 que antes da realização da termografia infravermelha não houve nenhuma manipulação da glândula mamária,

111 evitando induzir manuseio físico que pudesse alterar a temperatura da glândula, conforme Schutz et al.
112 (2011).

113 O foco emissor da câmera termográfica foi direcionado perpendicularmente às regiões anatômicas
114 examinadas, a um metro de distância das mesmas. As imagens termográficas (termogramas) foram
115 processadas pelo programa computacional (*Flir Tools 2.1®*), fazendo uso de formas geométricas para
116 mensurar as temperaturas das áreas desejadas, tais formas geométricas captaram a lateral direita do quarto
117 mamário anterior e dos tetos anterior: base, 1/3 médio e extremidade; também foram captadas imagens
118 termográficas da área caudal dos quartos mamários e dos tetos: base, 1/3 médio e extremidade (Figura 1). As
119 imagens termográficas foram capturadas assegurando a coerência entre as leituras de temperatura a partir das
120 imagens infravermelhas.

121 Um total de 170 imagens infravermelhas (termogramas) foi coletado na época chuvosa e 118
122 imagens na época seca, para cada posição de imagem no úbere do animal a ser analisado. A diferença de
123 dados coletados ocorreu devido divergência entre dias e períodos de realização das coletas. Com relação a
124 temperatura retal foram 288 mensurações durante todo o experimento.

125

126 *California Mastitis Test (CMT)*

127 O CMT foi realizado individual e imediatamente após as imagens termográficas. O primeiro jato de
128 leite do teto foi desprezado, completado com leite até a ‘primeira marca’ da raquete de CMT, com bastante
129 cuidado para não misturar o leite dos tetos. Adicionou-se o reagente CMT (violeta de bromocresol) e a
130 agitação foi realizada vagarosamente durante um minuto fazendo círculos. Foi, então, determinado o estado
131 de infecção pelo grau de coagulação obtido, podendo ser: negativo (-), suspeito (+), fracamente positivo
132 (++) , positivo (+++) ou fortemente positivo (+++); método desenvolvido por Schalm e Noorlander (1957).

133

134 *Contagem de Células Somáticas*

135 A coleta de leite para CCS foi precedida por antisepsia dos tetos e da abertura do canal galactóforo
136 com álcool iodado. O leite foi coletado em frascos padrão contendo conservante ‘Bronopol’ (2-bromo-2
137 nitropropano-1,3-diol) das glândulas mamárias de todas as vacas, com intervalo de 28 ± 5 dias entre as
138 coletas. A mensuração da CCS foi realizada em células/ml, de acordo com o Sistema Internacional de
139 Unidades. As amostras foram encaminhadas imediatamente ao laboratório da Clínica do Leite – ESALQ-
140 USP, Piracicaba - SP, em condições de refrigeração para a realização da contagem de células somáticas
141 (CCS).

142

143 *Componentes do Leite*

144 Foram avaliados os seguintes componentes do leite: gordura, proteína, lactose, sólidos totais, extrato
145 seco desengordurado, nitrogênio ureico, caseína, porcentagem de caseína na proteína total do leite e acidez
146 Dornic. A coleta do leite para análise destes componentes do leite foi precedida por antisepsia dos tetos e da
147 abertura do canal galactóforo com álcool iodado. O leite foi coletado em frascos padrão contendo

148 conservante ‘Bronopol’ (2-bromo-2 nitropropano-1,3-diol) das glândulas mamárias de todas as vacas, com
149 intervalo de 28±5 dias entre as coletas. As amostras foram encaminhadas imediatamente ao laboratório da
150 Clínica do Leite – ESALQ-USP, Piracicaba - SP, em condições de refrigeração.

151

152 *Ultrassonografia modo B*

153 Exames de ultrassonografia (Aloka 500®, Japan) transretal com transdutor de 5MHz foram
154 realizados para diagnosticar a prenhez com base no dia da inseminação artificial e confirmar a
155 continuidade da mesma.

156

157 *Parâmetros Climáticos*

158 Os parâmetros climáticos: *wet bulb globe temperature* (WBGT) que apresenta em graus Celsius a
159 sensação térmica, e leva em consideração a captação dos dados da temperatura do globo negro (capta a
160 radiação térmica emitida), temperatura ambiente e umidade relativa do ar. Tais parâmetros foram
161 mensurados em cada uma das coletas a cada hora (entre as sete e nove horas), com globo termômetro digital
162 portátil (Instrutemp HT30®, Brasil).

163

164 *Análise Estatística*

165 A proposta metodológica geral da análise de variância realizada neste trabalho, baseia-se na análise
166 das variáveis aferidas por meio de dois fatores principais denominados períodos do ano (seco e chuvoso) e
167 fases reprodutivas, sendo o primeiro com dois níveis e o segundo com cinco níveis, estabelecendo assim um
168 experimento factorial 2 x 5. Ademais, foi realizada análise da existência de interação entre tais fatores para
169 cada variável. Quanto a interação, foi constatada análise de variância, comparando-se as vezes de cada
170 variável, entre cada um dos níveis de um dos fatores. Tais comparações foram feitas utilizando-se o teste de
171 Tukey ao nível de significância de 5%. Por outro lado, para as variáveis que não apresentaram interação,
172 foram citadas comparações contestantes entre os resultados dos autores, que apresentaram diferenças
173 significativas. Vale ressaltar, que houve variáveis apresentando diferenças entre médias em somente um
174 fator. Neste caso foi feita a comparação estádio Leeds somente neste fator. Por outro lado, também
175 houveram variáveis que apresentaram diferenças nos dois fatores e assim foram realizadas comparações em
176 cada um desses fatores. Por fim, houve variáveis que apresentaram interação. Somente neste caso foi
177 realizada a análise, fazendo comparações em um dos fatores para cada nível do outro fator.

178

179 **RESULTADOS**

180 Entre as coletas houve diferença ($P<0,05$) entre as variáveis proteína, lactose, sólidos totais, extrato
181 seco desengordurado, nitrogênio ureico, caseína e porcentagem de caseína em relação a proteína total do
182 leite; conforme a tabela 1. Houve diferenças ($P<0,05$) entre as fases reprodutivas e as variáveis: gordura,
183 proteína, sólidos totais, extrato seco desengordurado, caseína e porcentagem de caseína em relação a proteína

184 total do leite. O período do ano influenciou ($P<0,05$) nos componentes do leite: proteína, extrato seco
 185 desengordurado, nitrogênio ureico, caseína e porcentagem de caseína em relação a proteína total do leite.

186 Analisando dois fatores para cada variável (Tabela 2) houve diferença significativa ($P<0,05$) de
 187 temperatura de úbere caudal de $33,9\pm2,1^{\circ}\text{C}$ em relação a segunda fase reprodutiva (96-190 dias de
 188 prenhez) e fêmeas não prenhes nos dois períodos do ano. Para o CMT, houve diferenças ($P<0,05$) em cada
 189 período do ano para a primeira fase reprodutiva e puerpério. A gordura obteve diferenças ($P<0,05$) para
 190 fêmeas no puerpério e vazias no período seco do ano. A proteína relevou diferença significativa ($P<0,05$)
 191 apenas na primeira fase reprodutiva (1-95 dias de prenhez) e no período seco do ano. Os sólidos totais
 192 diferiram ($P<0,05$) na primeira (1-95 dias de prenhez) e segunda fase reprodutiva (96-190 dias de
 193 prenhez), puerpério e fêmeas não prenhes, durante o período seco do ano. O extrato seco desengordurado
 194 mostrou diferenças ($P<0,05$) no período seco do ano, durante primeira fase reprodutiva, puerpério e em vacas
 195 não prenhes. O nitrogênio ureico diferiu ($P<0,05$) apenas na segunda fase reprodutiva, comparando-se os
 196 períodos seco e chuvoso do ano. A caseína relevou diferenças ($P<0,05$) no puerpério. A porcentagem de
 197 caseína em relação a proteína total diferiu ($P<0,05$) apenas no puerpério.

198 Com relação aos parâmetros climáticos durante os momentos das coletas, as médias e os coeficientes
 199 de variação são apresentados na Tabela 3, houve diferenças ($P<0,05$) considerando a interação período do
 200 ano e fase reprodutiva para as variáveis do clima.

201 O CMT correlacionado com a temperatura das diferentes fases reprodutivas apresentou diferenças
 202 significativas ($P<0,05$) em todas as fases reprodutivas durante o período chuvoso. Para as temperaturas das
 203 diferentes fases reprodutivas, comparados com as variáveis gordura, proteína, sólidos totais, extrato seco
 204 desengordurado, nitrogênio ureico, caseína, porcentagem de caseína em relação a proteína total do leite e
 205 contagem de células somáticas; houve diferenças ($P<0,05$) para todas as variáveis em todas as fases
 206 reprodutivas. (Tabela 4)

207 Correlações em estádio Leeds ($P<0,01$) foram observadas entre o CMT e a CCS na tabela 5.

208

209 DISCUSSÃO

210 Quantitativamente foram obtidos dados da glândula mamária em vacas da raça Holandesa, conforme
 211 a fase reprodutiva e o período do ano. As imagens termográficas revelaram temperaturas com o intuito de
 212 auxiliar na detecção precoce da mastite subclínica e, consequentemente, a execução de tratamento imediato e
 213 eficaz. A incorporação da pecuária de precisão no dia-a-dia dos produtores rurais revela-se como medida
 214 preventiva e redutora de custos em tratamentos, a finalidade do presente trabalho está diretamente
 215 relacionada com a pecuária de precisão, uma vez que a termografia digital por infravermelho é sensível para
 216 detectar alterações de temperatura no úbere relacionadas a mastite subclínica.

217 A mastite ocorre devido à infecção intramamária. É uma das doenças economicamente mais
 218 relevantes em vacas leiteiras, que provoca reduções na quantidade e qualidade do leite. Atualmente, o
 219 controle da mastite tem como critério a contagem de células somáticas (CCS) aliados a contagem bacteriana
 220 total (CBT) e *California Mastitis Test* (CMT) do leite. A mastite subclínica, no entanto, é caracterizada por

221 leite aparentemente normal, com aumento de CCS (até 400.000 células / ml) pois há influxo de leucócitos
222 (SEARS E MCCARTHY, 2003). A contagem de células somáticas é considerada o melhor indicador de
223 resposta inflamatória porque está associada com a perda de rendimento de leite e alteração nas propriedades
224 do leite, a partir de 50 000 células / ml (HAMANN et al., 2005). Contudo, a CCS aumentada pode não ser
225 necessariamente um sinal de mastite clínica. Neste experimento, a cultura microbiológica não foi realizada;
226 em vez disso, a CCS foi usada para mastites subclínicas e a confiabilidade das imagens termográficas foi
227 comparada com CMT para detectar mastite subclínica. Semelhantemente Colak et al., (2008) afirma que a
228 existência das altas correlações positivas entre os resultados dos testes CMT e CCS em relação a positividade
229 da mastite.

230 O CMT é utilizado mundialmente no diagnóstico da mastite subclínica e tem como vantagem poder
231 ser empregado no local do rebanho, no momento em que os animais são ordenhados (ABRAHMSÉN et al.,
232 2014), além de ser prático, ter baixo custo e fornecer resultados imediatos (ENEVOLDSEN et al., 1995). O
233 reagente do CMT (violeta de bromocresol) destrói os glóbulos brancos (leucócitos) existentes no leite e
234 coagula sua proteína. Ao misturar o reagente ao leite, dependendo da quantidade de glóbulos brancos
235 existentes, variará o grau de coagulação. De acordo com este grau, verifica-se o estado da infecção.

236 Estudos confirmam que existe alteração da composição do leite quando o animal que o produz
237 apresenta qualquer classificação de mastite, já que a mastite altera a CCS, CMT e CBT. Addis et al., (2016)
238 confirmaram que a *cathelicidin* (proteína) é liberada no leite de vacas com mastite e que sua presença está
239 altamente correlacionada com CCS. A contagem eletrônica de células somáticas no leite é uma forma
240 moderna de diagnóstico de mastite. Aceita internacionalmente como critério de avaliação da sanidade da
241 glândula mamária da vaca e consequentemente da qualidade do leite, individualmente por ela produzido ou
242 pelo rebanho, através do exame do leite de cada quarto do úbere (URIOSTE et al., 2010; BERRY et al.,
243 2013). Pontuar quais componentes do leite sofrem alteração e quanto grave ela é, aliando aos testes de triagem
244 e imagens infravermelhas do úbere, é o que deseja este trabalho.

245 As imagens termográficas deste estudo mostraram similaridade em relação aos métodos utilizados
246 com Alejandro et al. (2014), Metzner et al. (2014) e Talukder et al. (2015) e Chacur et al. (2016), que
247 utilizaram áreas e pontos para mensurar a temperatura da superfície da pele; realizando o mesmo exame não
248 invasivo e relatando que o mesmo possui acurácia. Hurnik et al., (1984) mostraram que as imagens
249 termográficas foram capazes de detectar 4 de 6 casos de mastite e capacidade de detecção foi superior em
250 infecções sistêmicas graves.

251 A temperatura da superfície do corpo sofre influência do fluxo sanguíneo dos tecidos, do
252 metabolismo e da evaporação pelo suor, podendo-se ao mensurar a temperatura, qualificar os estágios
253 fisiológicos de saúde dos tecidos e as oscilações por fatores externos (temperatura ambiente, umidade
254 relativa do ar e ação do vento) (NIKKHAH, 2015). A espessura, densidade da pele e a pelagem das
255 diferentes raças bovinas, também devem ser considerados fatores que influenciam no estudo da imagem
256 infravermelha na análise de temperaturas (GONÇALVES, 2013), pelagens claras refletem o calor e as
257 escuras absorvem o mesmo; portanto deve-se evitar captar imagens de animais expostos diretamente ao sol
258 para obter imagens termográficas autênticas.

259 Em relação aos parâmetros climáticos, o presente estudo revelou que houve diferenças entre os
260 períodos do ano, corroborando Berry et al. (2013) que relataram correlações positivas entre as temperaturas
261 mensuradas com termografia e a temperatura ambiente e temperatura do úbere.

262 As fases reprodutivas têm relação direta com a temperatura retal das fêmeas, revelando que animais
263 prenhes apresentaram temperatura corporal mais alta, em relação às vacas não prenhas. Suthar et al. (2012) e
264 Rensis et al. (2015) relataram que animais prenhes possuem maior concentração de progesterona na corrente
265 sanguínea, tendo esse hormônio ação termogênica, elevando a temperatura corporal de vacas prenhas. As
266 imagens infravermelhas deste estudo foram capazes de detectar variações de temperatura corporal
267 comparando-se as diferentes fases reprodutivas das fêmeas. As variações na temperatura corporal foram de
268 $33,2 \pm 2,1^{\circ}\text{C}$, similar aos obtidos por Gil et al. (2001) e Gabor et al. (2016) que compararam temperaturas de
269 animais nas suas diferentes fases reprodutivas.

270 No presente estudo o período do ano influenciou mudanças nos componentes do leite, Tiezzi et al.,
271 (2017) também relataram mudanças na CCS de acordo com o período do ano.

272 Durante as fases reprodutivas houve variação nos componentes do leite, resultados similares a
273 Yamazaki et al., (2016) que compararam o efeito do estágio de gestação na produção de leite; afirmando que
274 existe variação de todos os componentes do leite ao longo da gestação da fêmea.

275 Houve aumento da temperatura da glândula mamária e aumento da positividade do CMT na primeira
276 e quarta fase reprodutiva; resultados semelhantes foram obtidos por Hovinen et al., (2008).

277

278 CONCLUSÕES

279 Conclui-se, que as imagens de termografia por infravermelho são sensíveis para detectar alterações
280 de temperatura na superfície da pele, em resposta a graus variados de gravidade da infecção da glândula
281 mamária, como sugere o CMT, e utilizada como uma ferramenta não invasiva, as imagens infravermelhas
282 podem ser empregadas para rastreamento de vacas leiteiras para mastite. Entretanto, os parâmetros
283 climáticos exercem influência sobre as fases reprodutivas e consequentemente componentes do leite,
284 portanto estudos em sua confiabilidade diagnóstica para exames de mastite subclínica ou clínica em vacas
285 são necessários. A captura e análise das imagens foi prática, sendo recomendado o exame de termografia na
286 rotina como complementar ao exame clínico.

287

288 AGRADECIMENTOS

289 Ao CNPq pelo auxílio financeiro.

290

291 CONFLITO DE INTERESSE

292 Nenhum dos autores tem qualquer conflito de interesses a declarar.

293

294

295

296

297 **REFERÊNCIAS**

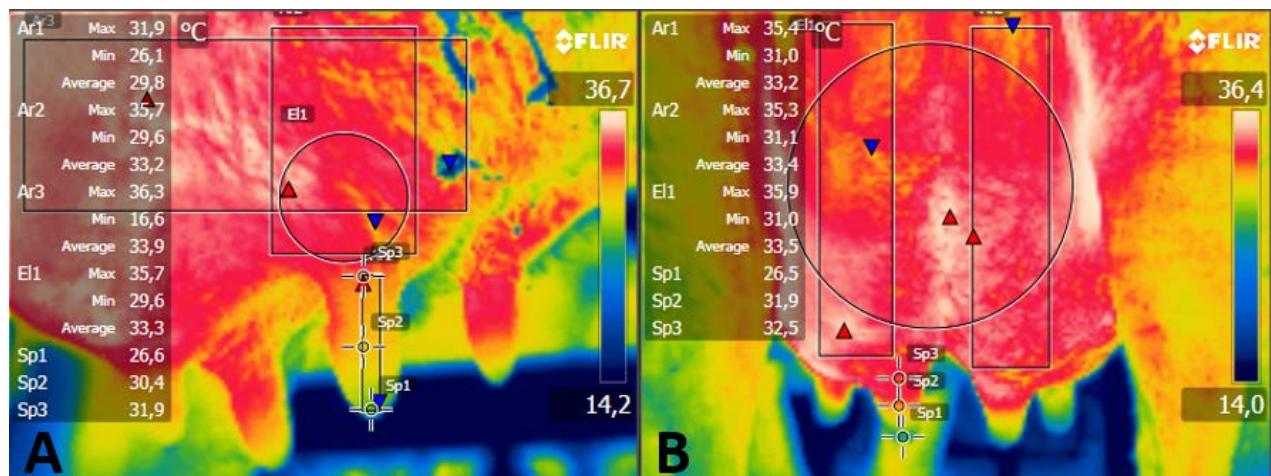
- 298
- 299 ABRAHMSÉN, M.; PERSSON, Y.; KANYIMA, B. M.; BAGE, R. Prevalence of subclinical mastitis in
300 dairy farms in urban and peri-urban areas of Kampala, Uganda. *Trop Anim Health Prod*, v. 46, p. 99–105,
301 2014.
- 302 ADDIS, M. F.; TEDDE, V.; PUGGIONI, G.M.G.; PISANU, S.; CASULA, A.; LOCATELLI, C.; ROTA,
303 N.; BRONZO, V.; MORONI, P.; UZZAU, S. Evaluation of milk cathelicidin for detection of bovine mastitis.
304 *Journal of Dairy Science*, v. 99, n. 10, p. 8250-8258, 2016.
- 305 AKERS, R. M.; NICKERSON, S. C. Mastitis and its impact on structure and function in the ruminant
306 mammary gland. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, v. 16, p. 275–289, 2011.
- 307 ALEJANDRO, M.; ROMERO, G.; SABATER, J.M.; DÍAZ, J.R. Infrared thermography as a tool to
308 determine teat tissue changes caused by machine milking in Murciano-Granadina goats. *Live stock Science*,
309 v. 160, p. 178–185, 2014.
- 310 ALSAAOD, M.; SCHAEFER, A. L.; BÜSCHER, W.; STEINER, A. The Role of Infrared Thermography as
311 a Non-Invasive Tool for the Detection of Lameness in Cattle. *Sensors*, v. 15, p. 14513-14525, 2015.
- 312 AULDIST, M. Effect on processing characteristics. *Encyclopedia of Dairy Science*, London, v. 67, p. 2002–
313 2006, 2002.
- 314 BERRY, D. P.; COUGHLAN, B.; ENRIGHT, B.; BURKE, M. Factors associated with milking
315 characteristics in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 96, p. 5943–5953, 2013.
- 316 BERRY, R. J.; KENNEDY, A. D.; SCOTT, S. L.; KYLE, B. L.; SCHAEFER, A. L. Daily variation in the
317 udder surface temperature of dairy cows measured by infrared thermography: Potential for mastitis detection.
318 *Can. Journal Animal Science*, v. 83, p. 687–693, 2003.
- 319 BURFEIND, O.; VON KEYSERLINGK, M. A. G.; WEARY, D. M.; VEIRA, D. M.; HEUWIESER, W.
320 Short communication: Repeatability of measure of rectal temperature in dairy cows. *Journal of Dairy
321 Science*, v. 93, p. 624–627, 2010.
- 322 CHA, E.; HERTL, J. A.; BAR, D.; GROHN, Y. T. The cost of different types of lameness in dairy cows
323 calculated by dynamic programming. *Prev. Vet. Med*, v. 97, p. 1–8, 2010.
- 324 CHACUR, M.G.M.; BASTOS, G.P.; VIVIAN, D.S.; SILVA, L.; CHIARI, L.N.F.; ARAUJO, J.S.; SOUZA,
325 C.D.; GABRIEL FILHO, L.R.A. Use of infrared thermography to evaluate the influence of the of Climatic
326 Factors in the Reproduction and Lactation of Dairy Cattle. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 44, p. 1412-1421,
327 2016.
- 328 CHEVILLE, N. F. Inflammation and healing. *Introduction to Veterinary Pathology*, Ames, v. 2, p. 101–102,
329 1999.
- 330 COLAK, A.; POLAT, B.; OKUMUS, Z.; KAYA, M.; YANMAZ, L.E.; HAYIRLI, A. Early detection of
331 mastitis using infrared thermography in dairy cows. *Journal Dairy Science*, v. 91, p. 4244–8, 2008.
- 332 DADPASAND, M.; ZAMIRI, M. J.; ATASHI, H.; AKHLAGHI, A. Genetic relationship of conformation
333 traits with average somatic cell score at 150 and 305 days in milk in Holstein cows of Iran. *Journal Dairy
334 Science*, v. 95, p. 7340–7345, 2012.

- 335 EDDY, A.L.; VAN HOOGMOED, L.M.; SNYDER, J.R. The role of thermography in the management of
336 equine lameness. *Vet. J.*, v. 162, p. 172–181, 2001.
- 337 ENEVOLDSEN, C; GROHN, Y.; THISEN, I. Dairy cow characteristics related to *Staphylococcus aureus*
338 isolation from quarter samples. *Journal of Dairy Research*, v.62, n.1, p.69-81, 1995.
- 339 GABOR, G.; KASTELIK, J. P.; ABONYI-TOTH, Z.; GABOR, P.; ENDRODI, T.; BALOGH, O. G.
340 Pregnancy loss in dairy cattle: relationship of ultrasound, blood pregnancy specific protein B, progesterone
341 and production variables. *Reproduction Domestic Animals*, v. 51, n. 4, p. 467-73, 2016.
- 342 GIL, Z.; KURAL, J.; SZAREK, J.; WIERZCHÓS, E. Increase in milk and body temperature of cows as a
343 sign of embryo entry into the uterus. *Theriogenology*, v. 56, n. 4, p. 685-97, 2001.
- 344 GONÇALVES, C.S.M. Uso da termografia no diagnóstico precoce da doença respiratória bovina em
345 explorações de engorda. Lisboa – Portugal. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). *Faculdade de*
346 *Medicina Veterinária*, p. 108, 2013.
- 347 GOYACHE, F.; DIEZ, J.; LOPEZ, S.; PAJARES, G.; SANTOS, B.; FERNANDEZ, I.; PRIETO, M.
348 Machine Learning as an aid to management decisions on high somatic cell counts in dairy farms. *Anim. Bree,*
349 Arch, v. 48, p. 138–148, 2005.
- 350 HAMANN, J. Diagnosis of mastitis and indicators of milk quality. Mastitis in Dairy Production: Current
351 Knowledge and Future Solutions. *Wageningen Academic Publishers*, Netherlands. p. 82–91, 2005.
- 352 HOVINEN, M.; SIIVONEN, J.; TAPONEN, S.; HÄNNINEN, L.; PASTELL, M.; AISLA,
353 AM.; PYÖRÄLÄ, S. Detection of clinical mastitis with the help of a thermal camera. *Journal Dairy*
354 *Science*, v. 91, n. 12, p. 4592-4598, 2008.
- 355 HURNIK, J.F.; DE BOER, S.; WEBSTER, A.B.; PUROHIT, R.C.; BERGFELD, W.A.; MCCOY, M.D.;
356 THOMPSON, W.M. Detection of health disorders in dairy cattle utilizing a thermal infrared scanning
357 technique. *Can. Journal Animal Science*, v. 64, p. 1071-1073, 1984.
- 358 KELLY, A. L. Test methods and standards. Encyclopedia of Dairy Science. *Academic Press Inc.*, London, p.
359 1995–2001, 2002.
- 360 KOECK, A.; MIGLIOR, F.; KELTON, D. F.; SCHENKEL, F. S. Alternative somatic cell count traits to
361 improve mastitis resistance in Canadian Holsteins. *Journal Dairy Science*, v. 95, p. 432–439, 2012.
- 362 LUZI, F.; MITCHELL, M.; NANNI, C. L.; REDAELLI, V. Thermography: current status and advances in
363 livestock animals and in veterinary medicine. *Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche*, Brescia,
364 2013.
- 365 METZNER, M.; SAUTER-LOUZ, C.; SEEMUELLER, A.; PETZL, W.; KLEE, W. Infrared thermography
366 of the udder surface of dairy cattle: Characteristics, methods, and correlation with rectal temperature. *The*
367 *Veterinary Journal*, v. 199, p. 57–62, 2014.
- 368 MONTANHOLI, Y. R.; SWANSON, K. C.; PALME, R.; SCHENKEL, F. S.; MCBRIDE, B. W.; LU, D.;
369 MILLER, S. P. Assessing feed efficiency in beef steers through feeding behavior, infrared thermography and
370 glucocorticoids. *The Animal Consortium*, v. 4, n. 5, p. 692–701, 2010.

- 371 NIKKHAH, A.; PLAIZIER, J. C.; EINARSON, M. S.; BERRY, R. J.; SCOTT, S. L.; KENNEDY, A. D.
372 Short Communication: Infrared Thermography and Visual Examination of Hooves of Dairy Cows in Two
373 Stages of Lactation. *Journal Dairy Science*, v. 88, p. 2749–2753, 2005.
- 374 NIKKHAH, A. Infrared Termography as a Prognostic Live stock. *Agrotech*, v. 4, 2015.
- 375 PAULRUD, C. O.; CLAUSEN, S.; ANDERSEN, P. E.; RASMUSSEN, M. D. Infrared thermography and
376 ultrasonography to indirectly monitor the influence of liner type and overmilking on teat tissue recovery.
377 *Acta Vet. Scand*, v. 46, p. 137–147, 2005.
- 378 RADOSTITS, O. M. et al. Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suíños, caprinos.
379 *Guanabara Koogan*, Rio de Janeiro, v. 9, p. 1772, 2002.
- 380 RENSIS, F.; GARCIA-ISPIERTO, I.; LÓPEZ-GATUIS, F. Seasonal heat stress: Clinical implications and
381 hormone treatments for the fertility of dairy cows. *Theriogenology*, v. 15, n. 84, p. 659-666, 2015.
- 382 SCHALM O. W.; NOORLANDER D. D. Experiments and observations leading to development of the
383 California Mastitis Test. *J. Am. Vet. Med. Assoc*, v. 130, p. 199-204, 1957.
- 384 SCHAEFER, A.L.; COOK, N.J. Heat Generation and the Role of Infrared Thermography in Pathological
385 Conditions. In Thermography: Current Status and Advances in Livestock Animals and in Veterinary
386 Medicine; Luzi, F., Mitchell, M., Costa, L.N., Redaelli, V., Eds; *Fondazione Iniziative Zooprofilattiche E*
387 *Zootecniche*, Brescia, p. 69–78, 2013.
- 388 SCHUTZ, K.E.; ROGERS, A.R.; COX, N.R.; WEBSTER, J.R.; TUCKER, C.B. Dairy cattle prefer shade
389 over sprinklers: effects on behavior and physiology. *Journal Dairy Science*, v. 94, p. 273–83, 2011.
- 390 SEARS, P. M.; MCCARTHY, K. K. Diagnosis of mastitis for therapy decisions. *Vet. Clin. North Am. Food*
391 *Anim. Pract*, v. 19, p. 93–108, 2003.
- 392 SUTHAR, V.S.; BURFEIND, O.; BONK, S.; DHAMI, A.J.; HEUWIESER, W. Endogenous and
393 exogenous progesterone influence body temperature in dairy cows. *Journal Dairy Science*. v. 95, p. 2381-
394 2389, 2012.
- 395 TALUKDER, S.; THOMSON, P.C.; KERRISK, K.L.; CLARK, C.E.F.; CELI, P. Evaluation of infrared
396 thermography body temperature and collar-mounted accelerometer and acoustic technology for predicting
397 time of ovulation of cows in a pasture-based system. *Theriogenology*, v. 83, n. 4, p. 739–748, 2014.
- 398 TALUKDER, S.; THOMSON, P.C.; KERRISK, K.L.; CLARK, C.E.F.; CELI, P. Evaluation of infrared
399 thermography body temperature and collar-mounted accelerometer and acoustic technology for predicting
400 time of ovulation of cows in a pasture-based system. *Theriogenology*, v. 83, n. 4, p. 739–748, 2015.
- 401 TIEZZI, F.; DE LOS CAMPOS, C.; GADDIS, K. L.; MALTECCA, C. Genotype by environment (climate)
402 interaction improves genomic prediction for production traits in US Holstein cattle. *Journal Dairy Science*.
403 v. 18, n. 17, p. 3039-3055, 2017.
- 404 URIOSTE, J. I.; FRANZÉN, J.; STRANDBERG, E. Phenotypic and genetic characterization of novel
405 somatic cell count traits from weekly or monthly observations. *Journal Dairy Science*, v. 93, p. 5930–5941,
406 2010.
- 407 VIGUIER, C.; ARORA, S.; GILMARTIN, N.; WELBECK, K.; O'KENNEDY, R. Mastitis detection:
408 Current trends and future perspectives. *Trends Biotechnol*, v. 27, p. 486–493, 2009.

409 WENZ, J. R.; MOORE, D. A.; KASINMANICKAM, R. Factors associated with the rectal temperature of
 410 Holstein dairy cows during the first 10 days in milk. *Journal. Dairy Science*, v. 94, p. 1864–1872, 2011.
 411 YAMAZAKI, T.; HAGIVA, K.; TAKEDA, H.; OSAWA, T.; YAMAGUCHI, S.; NAGAMINE, T. Effects
 412 of stage of pregnancy on variance components, daily milk yields and 305-day milk yield in Holstein cows, as
 413 estimated by using a test-day model. *Animal. Cambridge University Press*, v. 10, n. 8, p. 1263-1270, 2016.

414
415



416

Figura 1 – Termogramas com dados das temperaturas obtidos com o programa computacional nas áreas examinadas: A. Lateral direita do quarto mamário anterior (área demarcada) e dos tetos anterior: base, 1/3 médio e extremidade (pontos demarcados). B. Área caudal dos quartos mamários (áreas demarcadas) e dos tetos: base, 1/3 médio e extremidade (pontos demarcados).

417 **Tabela 1.** Médias e desvios padrão por coleta, fase reprodutiva e período do ano para as variáveis gordura, proteína, lactose, sólidos totais, extrato seco
 418 desengordurado, nitrogênio ureico, caseína, porcentagem de caseína na proteína total do leite, acidez Dornic.

	GOR	PROT	LACT	ST	ESD	CCS	NU	CAS	PCAS	AD	
Coleta	3	2±1,1 a	3,2±0,3 ab	4,7±0,2 ab	11±1,3 ab	8,9±0,4 abc	311,3±457,5 a	6±1,5 bc	2,6±0,3 a	78,6±2 a	17,9±5,1 a
	4	- -	- -	- -	- -	- -	294,8±310,5 a	4,9±1,6 c	2,5±0,4 a	78,1±2,1 a	17,6±2 a
	5	2,5±1,1 a	3,4±0,3 a	4,8±0,2 a	11,7±1,3 a	9,2±0,4 a	454±672 a	- -	- -	- -	19±3,3 a
	6	2,4±1 a	3,2±0,5 ab	4,7±0,2 ab	11,3±1,3 ab	8,9±0,4 abc	419±696 a	7,4±1,6 ab	2,4±0,5 ab	74,7±2,7 c	18,4±2,6 a
	7	2,3±0,8 a	3,2±0,3 abc	4,7±0,2 ab	11,1±0,9 ab	8,8±0,3 bc	353±601 a	7,3±1,3 ab	2,3±0,3 ab	74,2±2 c	17,7±1,9 a
	8	1,8±0,8 a	3±0,3 bc	4,7±0,2 ab	10,5±0,9 b	8,7±0,4 bc	251,1±305,3 a	7±1,9 ab	2,3±0,3 ab	77±1,2 ab	17,6±1,9 a
	9	2,3±0,7 a	3,1±0,3 bc	4,5±0,2 b	10,9±0,9 ab	8,6±0,4 c	426±618 a	8,2±2 a	2,3±0,3 ab	75,4±1,7 bc	16,9±3,2 a
	10	2,7±0,9 a	2,9±0,2 c	4,7±0,3 ab	11,3±0,9 ab	8,6±0,3 c	475±685 a	7,7±1,7 a	2,2±0,2 b	75,5±1,5 bc	17,1±2 a
	11	2,2±1,1 a	3±0,3 bc	4,7±0,2 ab	10,9±1,2 ab	8,7±0,4 bc	156,2±182,5 a	5,8±1,6 bc	2,3±0,2 ab	76,8±1,5 ab	18,6±2 a
	12	2,4±0,8 a	3,1±0,4 bc	4,6±0,2 b	11±1,1 ab	8,6±0,4 c	220,7±178,9 a	7,2±1,8 ab	2,3±0,3 ab	75,5±2 bc	- -
	1	2±0,8 b	3±0,3 bc	4,7±0,2 a	10,8±0,8 b	8,7±0,3 bc	287,4±484,2 a	7,1±1,6 a	2,3±0,3 bc	76,1±2,5 ab	18,1±2,7 a
Fase reprodutiva	2	2,6±0,8 a	3,3±0,4 a	4,7±0,2 a	11,6±1,1 a	8,9±0,5 a	358±485,2 a	6,5±2 a	2,5±0,4 a	76,8±2,4 a	17,8±2,5 a
	3	2,8±1,2 a	3,4±0,4 a	4,6±0,3 a	11,8±1,4 a	9±0,4 ab	658±837 a	6,4±2,5 a	2,5±0,2 abc	75,3±1,7 ab	17,3±2,9 a
	4	1,7±0,7 b	3±0,3 c	4,6±0,2 a	10,3±0,8 b	8,6±0,4 c	402±679 a	7,6±2 a	2,2±0,3 c	74,8±2,4 b	17,4±3,6 a
	5	2,6±1,1 a	3,2±0,3 ab	4,6±0,2 a	11,4±1,2 a	8,8±0,3 abc	260,5±227,1 a	6,2±1,7 a	2,4±0,2 ab	76,8±2 a	18,4±3,3 a
	1	2,3±1 a	3,2±0,4 a	4,7±0,2 a	11,2±1,2 a	8,9±0,4 a	342,7±508,6 a	6,4±1,9 b	2,5±0,4 a	76,7±2,8 a	18,2±3,4 a
Período do ano	2	2,3±0,9 a	3±0,3 b	4,7±0,2 a	10,9±1 a	8,7±0,3 b	344,2±535,9 a	7,3±1,8 a	2,3±0,2 b	75,7±1,9 b	17,6±2,3 a

419 Legenda: Coletas com intervalo de 28±5 dias entre elas. Fase Reprodutiva: 1: 0-95 dias de prenhez; 2: 96-190 dias de prenhez; 3: 191 – 285 dias de prenhez; 4: Puerpério; 5: não
 420 prenhe. Período do ano: 1: seco e 2: chuvoso. GOR: gordura, PROT: proteína, LACT: lactose, ST: sólidos totais, ESD: extrato seco desengordurado, CCS: contagem de células
 421 somáticas (células/ml), NU: nitrogênio ureico, CAS: caseína, PCAS: porcentagem de caseína na proteína total do leite, AD: acidez Dornic. Médias seguidas de letras minúsculas
 422 distintas nas colunas diferem entre si ($P<0,05$).

423

424

Tabela 2: Médias e desvios padrão do período do ano e fase reprodutiva interagindo com os componentes do leite e temperatura por infravermelho de úbere.

		Fase Reprodutiva				
Período do ano		1	2	3	4	5
UBERE CAUDAL	1	34,85±1,83 Aab	34,62±2,04 Bb	34,74±2,07 Aab	35,28±1,65 Aa	34,25±2,10 Bb
	2	33,47±1,62 Aa	33,19±2,20 Aa	33,68±2,83 Aa	34,07±1,27 Aa	32,24±2,40 Aa
CMT	1	2,71±1,49 Aa	2,37±1,29 Ba	2,17±1,60 Ba	2,51±1,43 Aa	2,49±1,33 Aa
	2	2,34±1,35 Ab	3,19±1,45 Aa	3,43±1,68 Aa	2,33±1,45 Ab	2,61±1,20 Aab
GOR	1	2,15±0,77 Abc	2,72±0,94 Ab	4,83±0,57 Aa	1,61±0,67 Ac	2,38±0,97 Ab
	2	1,91±0,72 Ab	2,53±0,72 Aab	2,38±0,71 Bab	1,88±0,96 Ab	3,03±1,38 Aa
PROT	1	3,16±0,22 Ac	3,47±0,42 Aab	4,03±0,33 Aa	2,90±0,29 Ad	3,28±0,28 Abc
	2	2,94±0,28 Bb	3,06±0,27 Ba	3,24±0,20 Ba	3,15±0,34 Aa	3,07±0,26 Aa
ST	1	10,96±0,85 Ac	11,92±1,19 Ab	14,47±0,21 Aa	10,12±0,63 Ad	11,29±1,09 Abc
	2	10,57±0,77 Ab	11,18±0,95 Ba	11,21±0,74 Ba	10,63±1,03 Aa	11,62±1,53 Aa
ESD	1	8,81±0,31 Ab	9,20±0,39 Aa	9,64±0,77 Aa	8,51±0,39 Ac	8,91±0,32 Ab
	2	8,66±0,33 Aa	8,66±0,40 Ba	8,83±0,24 Ba	8,76±0,26 Aa	8,59±0,19 Ba
NU	1	6,72±1,49 Aa	6,28±2,21 Aa	1,3 Bb	6,83±1,78 Ba	5,65±1,39 Bab
	2	7,47±1,68 Aab	6,63±1,80 Ab	6,89±1,90 Ab	9,41±1,16 Aa	7,30±1,89 Aab
CAS	1	2,40±0,23 Aa	2,71±0,45 Aa	2,93 Aa	2,12±0,23 Bb	2,52±0,22 Aa
	2	2,22±0,24 Ba	2,33±0,24 Ba	2,44±0,17 Aa	2,40±0,28 Aa	2,32±0,21 Aa
PCAS	1	76,74±2,58 Aab	77,89±2,67 Aa	77,11 Aab	74,28±2,54 Ab	77,50±1,67 Aa
	2	75,56±2,26 Ba	75,96±1,68 Ba	75,16±1,69 Aa	76,10±1,49 Aa	75,38±1,83 Ba

425 Legenda: Fase Reprodutiva: 1: 0-95 dias de prenhez; 2: 96-190 dias de prenhez; 3: 191 – 285 dias de prenhez; 4: puerpério; 5: não prenhe. Período do ano: 1: seco e 2: chuvoso.
 426 CMT: California Mastitis Test, GOR: gordura, PROT: proteína, ST: sólidos totais, ESD: extrato seco desengordurado, NU: nitrogênio ureico, CAS: caseína, PCAS: porcentagem
 427 de caseína na proteína total do leite. Médias seguidas de letras minúsculas distintas nas colunas diferem entre si ($P<0,05$).

428

429

Tabela 3. Valor de F de Fisher considerando-se a interação período do ano e fase reprodutiva em relação aos parâmetros climáticos.

Causa de Variação	WBGT	T. A.	T. G.	UR	T. R.
Período do ano	28,33*	13,03*	13,55*	8,31*	0,21 ^{NS}
Fase reprodutiva	1,18 ^{NS}	1,27 ^{NS}	1,32 ^{NS}	0,74 ^{NS}	5,67*
Período do ano X Fase reprodutiva	1,38 ^{NS}	2,08 ^{NS}	2 ^{NS}	2,1 ^{NS}	0,33 ^{NS}

430 Legenda: * significativo a 5%, ^{NS}: Não significativo; Abreviações: WBGT: *wet bulb globe temperature*, T.A.: temperatura ambiente, T.G.: temperatura do globo, UR: umidade
 431 relativa, T.R.: temperatura retal.

432

433 **Tabela 4.** Comparações das médias no período do ano e fase reprodutiva para as variáveis gordura, proteína, sólidos totais, extrato seco desengordurado, nitrogênio
 434 ureico, caseína, porcentagem de caseína na proteína total e CMT.

Variáveis	Período do ano	Fase reprodutiva									
		1	2	3	4	5					
GOR	1	2,15±0,77	Abc	2,72±0,94	Ab	4,83±0,57	Aa	1,61±0,67	Ac	2,38±0,97	Ab
	2	1,91±0,72	Ab	2,53±0,72	Aab	2,38±0,71	Bab	1,88±0,96	Ab	3,03±1,38	Aa
PROT	1	3,16±0,22	Ac	3,47±0,42	Aab	4,03±0,33	Aa	2,90±0,29	Ad	3,28±0,28	Abc
	2	2,94±0,28	Bb	3,06±0,27	Ba	3,24±0,20	Ba	3,15±0,34	Aa	3,07±0,26	Aa
ST	1	10,96±0,85	Ac	11,92±1,19	Ab	14,47±0,21	Aa	10,12±0,63	Ad	11,29±1,09	Abc
	2	10,57±0,77	Ab	11,18±0,95	Ba	11,21±0,74	Ba	10,63±1,03	Aa	11,62±1,53	Aa
ESD	1	8,81±0,31	Ab	9,20±0,39	Aa	9,64±0,77	Aa	8,51±0,39	Ac	8,91±0,32	Ab
	2	8,66±0,33	Aa	8,66±0,40	Ba	8,83±0,24	Ba	8,76±0,26	Aa	8,59±0,19	Ba
NU	1	6,72±1,49	Aa	6,28±2,21	Aa	1,3	Bb	6,83±1,78	Ba	5,65±1,39	Bab
	2	7,47±1,68	Aab	6,63±1,80	Ab	6,89±1,90	Ab	9,41±1,16	Aa	7,30±1,89	Aab
CAS	1	2,40±0,23	Aa	2,71±0,45	Aa	2,93	Aa	2,12±0,23	Bb	2,52±0,22	Aa
	2	2,22±0,24	Ba	2,33±0,24	Ba	2,44±0,17	Aa	2,40±0,28	Aa	2,32±0,21	Aa
PCAS	1	76,74±2,58	Aab	77,89±2,67	Aa	77,11	Aab	74,28±2,54	Ab	77,50±1,67	Aa
	2	75,56±2,26	Ba	75,96±1,68	Ba	75,16±1,69	Aa	76,10±1,49	Aa	75,38±1,83	Ba
CMT	1	2,1±1,6	Ba	1,6±1,4	Aa	0,8±1,4	Aa	1,5±1,5	Ba	1,9±1,4	Ba
	2	1,4±1,4	Ab	2,7±1,7	Ba	2,9±2	Ba	1,3±1,4	Ab	2,4±1	Aab

435 Legenda: Fase Reprodutiva: 1: 0-95 dias de prenhez; 2: 96-190 dias de prenhez; 3: 191 – 285 dias de prenhez; 4: puerpério; 5: não prenhe. Período do ano: 1: seco e 2: chuvoso.
 436 GOR: gordura, PROT: proteína, ST: sólidos totais, ESD: extrato seco desengordurado, NU: nitrogênio ureico, CAS: caseína, PCAS: porcentagem de caseína na proteína total do
 437 leite, CMT: California Mastitis Test. Letras minúsculas comparando as variáveis de acordo com fase reprodutiva, e letras maiúsculas comparando os períodos do ano, letras iguais
 438 não diferem entre si estatisticamente ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste Tukey.

439 **Tabela 5.** Correlações em estádio Leeds significativas entre as características CMT e CCS.

	CCS
	AE
CMT	0,438*
	AD
	0,532*
	PE
	0,454*
	PD
	0,518*
	MED
	0,471*

440 Legenda: * ($P < 0,01$). CMT: *California Mastitis Test*; AE: Anterior esquerdo; AD:
441 Anterior direito; PE: Posterior esquerdo; PD: Posterior direito; MED: Média.

ANEXO 1

PARECER COMITÊ DE ÉTICA E USO DE ANIMAIS EM EXPERIMENTAÇÃO (CEUA)

10/12/2016

Certificado

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista

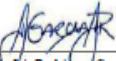
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PPG - Programa de Pesquisa de Pós-Graduação
PROBIC - Programa de Bolsas de Iniciação Científica

Parecer Final

Declaramos para os devidos fins que o Projeto de Pesquisa intitulado "**TEMPERATURAS DO CORPO E DA GLÂNDULA MAMÁRIA DE VACAS PRENHES DA RAÇA HOLANDESA: CORRELAÇÕES ENTRE TERMOGRAFIA DE INFRAVERMELHO, REATIVIDADE AO CMT E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS NO LEITE**", cadastrado na Coordenadoria Central de Pesquisa (CCPq) sob o número nº 2918 e tendo como participante(s) MARCELO GEORGE MUNGAI CHACUR (responsável), LUIS SOUZA LIMA DE SOUZA REIS (docente), CAIO DE OLIVEIRA SIQUEIRA (discente), CAMILA DUTRA DE SOUZA (discente), FERNANDA LUIZA GUINOSI BARBOSA DEAK (discente), GABRIELA FIGUEREDO CORNACINI (discente), ISAMARA BATATA ANDRADE (discente), MURILO SOUZA REDIVO (discente), EUNICE OBA (externo), LUIS ROBERTO ALMEIDA GABRIEL FILHO (externo), foi avaliado e APROVADO pelo COMITÉ ASSESSOR DE PESQUISA INSTITUCIONAL (CAPI) e COMISSÃO DE ÉTICA USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE de Presidente Prudente/SP.

Presidente Prudente, 18 de Dezembro de 2015.



Prof. Dr. Jair Rodrigues Garcia Jr.
Coordenador Científico da CCPq



Prof. Ms. Adriana Falcó de Brito
Coordenadora da CEUA - UNOESTE

ANEXO 2

NORMAS PARA AUTORES: - REPRODUCTION IN DOMESTIC ANIMALS

Author Guidelines

1. General

Reproduction in Domestic Animals is an international journal publishing original, significant articles on reproduction in domestic animals, laboratory animals, and wildlife, with particular attention to basic, applied and clinical research. Reproduction is considered in a broad context, with its strong disciplinary, comparative core. The journal therefore covers obstetrics, neonatology and udder health, and welcomes contributions in these areas. The scope of the journal applies to veterinarians, breeders, and biologists while also being of interest to practitioners of human medicine. *Reproduction in Domestic Animals* is the official organ of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR), the European Veterinary Society for Small Animal Reproduction (EVSSAR), and the Spanish Society of Animal Reproduction (AERA).

We encourage the submission of topical results for publication as original papers, reviews (mini-reviews or critical feature articles), or short communications (including case reports and technical notes). Note that *Reproduction in Domestic Animals* only publishes well-written papers of high scientific quality and significance for the advancement of the field of reproduction, despite they being scientifically sound or properly executed or written. Feature articles or reviews should overview known information or tackle controversial issues in a particular area of the above-mentioned fields that comprise the scope of the journal, with the aim of founding future innovative research. Letters to the Editor, viewpoint articles and comments on published papers are also welcomed. Comments should be confined to the substance of the paper and the authors of the paper referred to will be offered the opportunity to respond. The journal publishes ONLINE-only preliminary communications of results that are of current and extreme interest. Authors interested in preparing a review, a feature article, or a viewpoint article, are invited to discuss the matter with the Editor-in-Chief. Such preliminary contact with the Editor-in-Chief is also advisable when Patent-related matters are included in any manuscript. All papers are subjected to a thorough peer-review by at least two ad-hoc peer referees. Short communications will be subject to accelerated, but very strict refereeing. The publication language is English.

Short communications will be subject to accelerated, but very strict refereeing. Short Communications are available online only under its respective volume and issue at www.wileyonlinelibrary.com/journal/rda. The quality of articles and the standards for publication remain the same whether papers are published both print and online, or online-only.

The publication language is English.

English Language Editing Service: Ensure your paper is clearly written in standard, scientific English language appropriate to your discipline. [Visit our site](#) to learn about the options. Please note that using the Wiley English Language Editing Service does not guarantee that your paper will be accepted by this journal.

2. Manuscript submission

The submission and review process of Reproduction in Domestic Animals is solely handled online at <http://mc.manuscriptcentral.com/rda>. To submit an article to Reproduction in Domestic Animals, please go to <http://mc.manuscriptcentral.com/rda>, create an account and submit your article. Complete instructions on how to submit a paper are available online at the Journal website wileyonlinelibrary.com/journal/rda. Please note that it is compulsory to include all authors with their affiliation and valid email addresses.

Please see that the corresponding author's complete address and a valid email are also present in the manuscript.

2.1. Licence to publish

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to login into Author Services; where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper.

For authors signing the copyright transfer agreement

If the OnlineOpen option is not selected the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs below

CTA Terms and Conditions <http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright- 301.html>

For authors choosing OnlineOpen

If the OnlineOpen option is selected the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreement (OAA):

Creative Commons Attribution License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA

Commons Attribution Non-Commercial -NoDerivs License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services <http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright- 301.html> and

visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>.

If you select the OnlineOpen option and your research is funded by certain funders [e.g. The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) or the Australian Science Fund (FWF)] you will be given the opportunity to publish your article under a CC-

BY license supporting you in complying with Wellcome Trust and Research Councils UK requirements. For more information on this policy and the Journal's compliant self-archiving policy please visit:<http://www.wiley.com/go/funderstatement>.

2.2. Authorship and Acknowledgements

Authorship: Authors submitting a paper do so on the understanding that the manuscript has been read and approved by all authors and that all authors agree to the submission of the manuscript to the Journal.

Reproduction in Domestic Animals adheres to the definition of authorship set up by The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). According to the ICMJE, authorship criteria should be based on 1) substantial contributions to conception and design of, or acquisition of data or analysis and interpretation of data, 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2 and 3.

Upon submission of the manuscript, it is required that all authors be accredited as appropriate. During the online submission process, the corresponding author will be asked to submit a short description of each individual's contribution to the research and its publication. **Upon submission of a manuscript all co-authors must also be registered with correct e-mail addresses. If any of the e-mail addresses supplied are missing or incorrect, the manuscript shall not be processed pending contact with the corresponding author.**

Acknowledgements: Authors **must** acknowledge individuals who do not qualify as authors but who contributed to the research presented. Authors **must** acknowledge any assistance that they have received (e.g. provision of writing assistance, literature searching, data analysis, administrative support, supply of materials), describing if and how this assistance was funded and included with other funding information. The acknowledgements should be brief and not include thanks to anonymous referees and editors. Where scientists are acknowledged, a covering letter demonstrating their consent must be provided.

Conflict of interest: A subheading "Conflict of interest statement" **must** be placed at the end of the manuscript text (following acknowledgements), where all authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organisations that could inappropriately bias or influence their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, or direct or indirect funding.

Funding sources: All sources of funding should be declared as an acknowledgement at the end of the text. Authors should declare the role of study sponsors, if any, in the study design, in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the manuscript; and in the decision to submit the manuscript for publication. If the study sponsors had no such involvement, the authors should state this clearly.

Use of non-commercially available instrumentation, substances , antibodies or assays: When these had been kindly provided by any research group or company, an appropriate letter from them **MUST** be provided alongside the manuscript at submission (upload it as a well identified supplementary file).

3. Manuscript Requirements

3.1. Format

The manuscript must be typed (Times, font 12) with double spacing *throughout* and with a margin of at least 3 cm on the left-hand side. Lines must be numbered in a consecutive manner starting on the first page, in the left-hand margin. All pages of the manuscript must also be numbered consecutively, including those containing references, tables, and captions to illustrations, all of which are to be placed after the text. Illustrations, both line drawings and photographs, are to be numbered as figures in a common sequence. The text should be prepared using standard software (Microsoft Word).doc; do not use automated or manual hyphenation.

On page one of the manuscript the official name of the institution, the place where the work was carried out, the title of the article, and the names of authors must be stated as follows: Town, Country (no mailing address); Title of Article; Name A, Name B, and Name C. The title should be concise and appropriately informative and should contain all keywords necessary to facilitate retrieval by modern search techniques. Additional keywords not already contained in the title or contents (abstract, summary) may be listed beneath the contents. An abridged title suitable for use as a running head at the top of the printed page and not exceeding 50 letters and spaces should also be supplied. Each original paper, review or short communication shall contain a short contents (abstract, summary), preferably less than 250 words. The contents should not just recapitulate the results but should state concisely the scope of the work and give the principal findings, avoiding acronyms and references. The contents shall be complete enough for direct use by abstracting services.

Original articles should be structured in the following order: Title, Contents, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgment and References. Placement of figures and tables should be indicated in the text. The experimental design should be described in sufficient detail (methods, analyses, statistics, breeds, origin, and management of animals etc.) to allow for repetition of the experiments.

If the paper is one of a numbered series, a reference to the previous part should be given as a footnote on the first page. If a part not yet published needs to be consulted for a proper understanding of the paper, an electronic copy of that manuscript should be supplied to assist the referees. The corresponding author postal and a functional e-mail address must appear at the end of the paper. Sets of identical data should not be given in tables and figures. Figures and tables should be accompanied by a legend.

The manuscript comprises a printout of the text, figures, tables, and a list of all figures and tables with their captions and titles on a separate piece of paper. We ask that you convey the essential information within the first 60 characters of the captions to accommodate the online edition. Each figure, table, and bibliographic entry must have a reference in the text. For all figures please include reproduceable artwork (marked with the author's name, short title, and figure number). Please do not import the figures into the text file.

3.2. Length

Original papers and review articles, including figures, tables and references, should not exceed 5,000 words. Short Communications (case reports and technical notes), should not exceed 1,800 words, including figures, tables and references. The number of figures and tables should be kept to a minimum. Extended data sets can be published online as supplementary material and should be identified as such.

3.3. Units, abbreviations and nomenclature

All specifications must be stated according to the S.I. System. Concentrations of chemical solutions are to be given in mol/l. All other concentrations should be given in % (volume or weight). All products implemented are to be mentioned with the manufacturer's name and delivery address which should appear in a footnote on the same page.

Any abbreviations of chemical, biological, medical, or other terms should only be employed when it is certain that they are internationally known. The full name must be stated in brackets when the abbreviation is first used.

All biological, medical, chemical, or other terms should be used according to the most recent recommendations of respective international nomenclature. Enzymes should be given according to the Enzyme Nomenclature (Elsevier Publishing Co., 1965). In the case of commercially obtained substances or reagents, the name and address of the manufacturer or supplier should be given as a footnote, when they are first mentioned in the text. Products (preparations etc.) with a **registered** trademark should be marked with ®. When **non-commercially available** substances or reagents are used, the following text must be provided: “[kindly provided by (name of the person plus the research group address or company name and location) and the corresponding date]”

Bacterial names should be in accordance with the latest edition of Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (The Williams and Wilkins Co., Baltimore). Viruses are to be given the classification and names recommended by the International Committee on the Nomenclature of Viruses.

3.4. Illustrations and tables

Original Photographs or drawings must be sharp and of high contrast. Figures should be saved in a neutral data format such as TIFF or EPS, and a printout should always be included. Powerpoint and Word graphics are unsuitable for good quality reproduction. Please do not use any pixel-oriented programmes. Scanned figures (only in TIFF format) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size. Please note that figures will generally be reduced to fit within the column-width or the print area. This means that numbering and lettering must still be readable when reduced (e.g. maps) and that the scale might not correspond with the original (microscopic pictures), thereby invalidating references to scale in the text. If artwork is to be scanned, line drawings should only be contour drawings without halftones (shades of grey). Please do not use patterns; rough hatching is possible. Graphs with an x and y axis should not be enclosed

in frames; only 2-dimensional representations. Do not forget the labels and units. Captions for the figures should give a precise description of the content and should not be repeated within the figure.

Please submit the data for figures in black and white. However, colour photos can be reproduced in black and white (with a possible loss of contrast). Colour graphics should be created using the RGB mode.

Please direct queries to the Production Editor at rda@wiley.com.

Tables should be created using the table function.

3.5. References

List all sources in the reference list alphabetically by name. . In text citations should follow the author-date method. This means that the author's last name and the year of publication for the source should appear in the text, for example, (Jones, 1998), and a complete reference should appear in the reference list at the end of the paper.

References are styled according to the sixth edition of the Publication Manual of the American Psychological Association. A sample of the most common entries in reference lists appears below. Please note that for journal articles, issue numbers are not included unless each issue in the volume begins with page one.

Journal article:

Phelps, L. (1996). Discriminative validity of the WRAML with ADHD and LD children. *Psychology in the Schools*, 33, 5-12..

Book edition:

Bradley-Johnson, S. (1994). Psychoeducational assessment of students who are visually impaired or blind: Infancy through high school (2nd ed.). Austin, TX: Pro-ed.

References should refer only to material listed within the text.

All entries in the reference list must correspond to citations in the text. No editorial responsibility can be taken for the accuracy of the references, and authors are requested to check these with special care. Papers that have not been accepted for publication are not to be included in the list of references and must be cited either as 'unpublished data' or as 'personal communication'. The use of such citations is discouraged. It is the author's responsibility to ensure that they have permission to cite material as a personal communication.

3.6. Laboratory animals

Papers reporting work with animals should include a reference to the code of practice adopted for the experimentation. Editors will take account of ethical and animal welfare issues and reserve the right not to publish.

4. Proof correction and offprints

When you receive proofs of your article, please check, correct, and return them **electronically** to the Editor-in-Chief without delay (within 3 days of receipt), as **e-annotated proofs**. As changes to proofs are costly, we ask that you only correct typesetting errors.

Proofs will be sent via e-mail as an Acrobat PDF (portable document format) file. The e-mail server must be able to accept attachments up to 4 MB in size. To view, print and annotate the proofs of your article you will need Adobe Reader version 7 (or higher). This software can be downloaded (free of charge) for a whole series of platforms that include PC, Mac, and UNIX and can be downloaded from <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>. The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/acrobat/acrrsystemregs.html#70win>. Further instructions will besent with the proof. In your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs.

Free access to the final PDF offprint or your article will be available via author services only. Please therefore sign up for author services if you would like to access your article PDF offprint and enjoy the many other benefits the service offers.

5. Book reviews

Book reviews appear irregularly at the end of the journals. Books submitted for review are sent by the editors to a scientist involved in the special research area. No fee is paid for reviews, but the review copy of the book (either as hard copy or electronic copy) remains the property of the reviewer. Each review should begin with exact bibliographical data on the publication, according to the following pattern:

Author(s) and/or editor(s), publication title, subtitle, edition, title of the publication series (and possibly its editors) in which the book has appeared, publisher, place of publication, year of publication, number of pages, number of illustrations, tables, and diagrams, cover material (e.g. paperback, quarter cloth binding etc.), retail price. Example:

Immelmann, F.: Introduction to Animal Behaviour. Revised and extended 3rd edition. Pareys Studientexte No. 13. Paul Parey Scientific Publishers, Berlin and Hamburg. 1983. 223 pp., 106 figs., Balacron paperback, Euro 28.0.

6. Supplements

As the official organ of the ESDAR, the EVSSAR and AERA, the journal publishes the proceedings (fully refereed main papers and abstracts) of the societies' Annual Meetings. Other Proceedings, as hard copy and/or online, can be published as Supplements following agreement with the Editor-in-Chief (for contents and scope) and the publisher (for terms and cost).

Wiley Blackwell's Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript.

Visit<http://authorservices.wiley.com/bauthor/> for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

Reproduction in Domestic Animals is covered by Wiley Online Library's **Early View** online service. **Early View** articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Articles are therefore available as soon as they are ready, rather than having to wait for the next scheduled print issue. **Early View** articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made after online publication. The nature of **Early View** articles means that they do not yet have volume, issue or page numbers, so **Early View** articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

ANEXO 3

NORMAS PARA AUTORES: SEMINA: CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Guidelines for Authors

ATTENTION AUTHORS:

WE RECOMMEND THAT AUTHORS THOROUGHLY CONSULT THE GUIDELINES, SINCE PAPERS THAT ARE NOT PREPARED RIGOROUSLY ACCORDING TO THE STANDARDS WILL NOT BE ACCEPTED.

After 02/19/2015, the submission fee for new articles will be R\$ 100,00. If the article is rejected, this fee will not be returned.

Articles submitted after **02/19/2015** that are accepted and approved for publication will be subjected to a Publication Fee, adjusted according to the number of pages in the manuscript.

Up to 10 pages: **R\$ 300.00**

From 11 to 15 pages: **R\$ 400.00**

From 16 to 20 pages: **R\$ 500.00**

From 21 to 25 pages: **R\$ 600.00**

If the **article is accepted for publication**, the amount of **R\$ 100.00** paid for the submission fee **will not be deducted from the publication fee**.

The **proof of deposit** should be scanned and annexed as a supplementary file in the electronic system.

The deposit should be made in the name of the Instituto de Tecnologia e Desenvolvimento Econômico e Social (ITEDES), CNPJ: 00.413.717/0001-65, in one of the three bank accounts below:

Banco do Brasil (001)

Branch: 1212-2

Current account: 43509-0 - Brasil

Caixa Econômica Federal (104)

Branch: 3076

Current account: 0033-4

Transaction: 003 - Brasil

Itaú (341)

Branch: 3893

Current account: 29567-9 - Brasil

Editorial standards for publishing in Semina: Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina (UEL)

Articles can be submitted in Portuguese or English, but will only be published in English. Articles that are submitted in Portuguese, if accepted for publication, will have to be translated into English.

Articles sent to the journal by march 31, 2014 and those that are still being processed may be published in Portuguese; however, priority for publication will be given to the articles that are translated into English.

All articles, after being accepted for publication, must be accompanied by a proof certificate of translation or correction (as a supplementary file) from one of the following translation services:

[American Journal Experts](#)

[Editage](#)

[Elsevier](#)

<http://www.proof-reading-service.com>

<http://www.academic-editing-services.com/>

<http://www.publicase.com.br/formulario.asp>

<http://www.stta.com.br/>

The lead author must attach the **document that provides evidence of** this translation or correction in the electronic system on the submission page in “Docs. Sup.”

COMMENTS:

1) Original manuscripts submitted for review are initially assessed by the Editorial Committee of *Semina: Ciências Agrárias*. In this assessment, quality requirements for publishing with the journal will be evaluated, such as scope of the article, suitability with regard to the journal standards, quality of writing and theoretical foundation. Additionally, it is also considered literature review update, consistency and accuracy of the methodology, contribution of the results, discussion of the data observed in the study, table and figure depiction, and originality and consistency of conclusions.

If the number of submitted manuscripts exceeds the assessment and publication capacity of *Semina: Ciências Agrárias*, a comparison between submissions will be made, and the works considered to have the highest contribution potential to scientific knowledge will be directed to ad hoc advisors. The manuscripts that are not approved by these criteria are archived, whereas the remaining manuscripts are subjected to assessment by at least two scientific advisors who are experts in the subject area of the manuscript, without identifying the authors. The submission fee will not be returned to authors who have their manuscripts archived.

2) Where appropriate, if the research project that originated the article was performed according to biosafety and ethics technical standards under approval from an ethics committee involving humans and/or an ethics committee involving animals, the commission name, institution, and process number should be stated.

MANDATORY REQUIREMENTS FOR ACCEPTANCE:

- a) The attached main article file has the names of the authors and their respective affiliations.
- b) The **complete registration** of all authors has been added to the metadata during submission; **Example:** Full name; Institution/Affiliation; Country; Summary of Biography>Title/Role.
- c) Text explaining the relevance of the work (importance and distinction from previously published works), with a maximum length of 10 lines, is included in the field COMMENTS TO THE EDITOR.
- d) The submission is accompanied by a document proving payment of the submission fee as a supplementary file in the “**Docs. Sup.**” section.
- e) The main article is accompanied by supplementary files, including graphs, figures, photos, and other documents, IN THEIR ORIGINAL VERSION (JPEG, TIFF, or EXCEL formats).
- f) The following information is included in the original manuscript: title, abstract, keywords in Portuguese and English, tables, and figures.

RESTRICTIONS BY SUBJECT AREA:

FOR THE AGRONOMY FIELD, MANUSCRIPTS WILL NOT BE ACCEPTED IN CASE OF THE FOLLOWING:

- a) The experiments conducted with an *in vitro* culture are limited to the improvement of protocols already standardized or do not provide new information about the subject area;
- b) The field experiments do not include data corresponding to at least two years or to diverse locations within the same year;
- c) The experiments refer only to tests about the efficiency of commercial products against biotic and abiotic agents or physiological stress;
- d) The experiments involve only bioassays (screening) on the efficacy of methods for controlling insects, mites, or diseases in plants, unless they contain an important contribution about the action mechanisms under the perspective of a frontier of knowledge; or
- e) The objective is limited to registering the occurrence of a species of a plague or pathogen or associations with hosts in new locations within geographical regions where the species is already known. Documenting already known species or associations will only be considered if they are described in new ecological areas. The distribution records should be based on ecosystems and not on political boundaries.

FOR THE VETERINARY FIELD, THE MANUSCRIPTS WILL NOT BE ACCEPTED IN CASE OF THE FOLLOWING:

- a) Publication of case reports is restricted; only articles with great relevance and originality that make a real contribution to the advance of knowledge in the field will be selected for processing.

Work Categories

- a) Scientific articles: maximum of 20 pages, including figures, tables, and bibliographic references
- b) Scientific communications: maximum of 12 pages, with bibliographic references limited to 16 citations and a maximum of two tables, two figures, or a combination of one table and one figure
- c) Case reports: maximum of 10 pages, with bibliographic references limited to 12 citations and a maximum of two tables, two figures, or one table and one figure
- d) Review articles: maximum of 25 pages, including figures, tables, and bibliographic references

Presentation of the Work

Complete original articles, communications, case reports, and reviews should be written in Portuguese or English using Microsoft Word for Windows, on A4-size paper, with lines numbered per page, 1.5 spacing between lines, Times New Roman font, size 11 normal, 2 cm margins on all sides, with pages numbered on the upper right corner and following the guidelines for the maximum number of pages according to the category of the work.

Figures (drawings, graphics, and photographs) and tables should be numbered with Arabic numerals, should be included at the end of the work immediately after the bibliographic references, and should be cited within the text. In addition, the figures must be of good quality and must be attached in their original format (JPEG, TIFF, etc.) in Docs Sup on the submission page. Figures and tables will not be accepted if they do not comply with the following specifications: width of 8 cm or 16 cm with maximum height of 22 cm. If the figure has greater dimensions, it will be reduced during the editorial process to the above-mentioned dimensions.

Note: Figures (Ex. **Figure 1.** Title) and tables (**Table 1.** Title) should have a width of 8 cm or 16 cm with maximum height of 22 cm. Those with greater dimensions will be reduced during the editorial process to the above-mentioned dimensions. For any tables and figures that are not the author's original work, a citation to the source consulted is mandatory. Place this citation below the table or figure and indicate using a smaller font (Times New Roman 10).

Ex: “**Fonte**”: IBGE (2014), or **Source**: IBGE (2014).

Manuscript preparation

Scientific article:

Scientific articles should report results of original research on the related areas, with the sections organized in the following way: Title in English; Title in Portuguese; Abstract in English with keywords (maximum six words, in alphabetic order); Abstract in Portuguese with keywords (maximum six words, in alphabetical order); Introduction; Materials and Methods; Results and Discussion, with Conclusions at the end of the Discussion or Results (Discussion and Conclusions should be written separately); Acknowledgements; Suppliers, if applicable; and Bibliographic References. The headings should be in boldface without numbering. If there is a need to include a sub-heading within a section, it should be placed in

italics, and if there are further sub-topics to include under a sub-heading, these should be numbered with Arabic numerals. (Example: **Materials and Methods**, *Areas of study, 1. Rural area, 2. Urban area.*)

The submitted work cannot have been published elsewhere with the same content, except in the form of an Abstract in Scientific Events, Introductory Notes, or Reduced Format.

The work should be presented in the following order:

1. Title of the work, accompanied by its translation in Portuguese, if appropriate.

2. Abstract and Keywords: An informative abstract with a minimum of 200 words and a maximum of 400 words must be included, in the same language used in the text of the article, accompanied by an English translation (*Abstract and Keywords*) if the text has not been written in English.

3. Introduction: The introduction must be concise and contain only the review that is strictly necessary to introduce the topic and support the methodology and discussion.

4. Materials and Methods: This section may be presented in a continuous, descriptive way or with sub-headings to allow the reader to understand and be able to repeat the methodology cited with or without the support of bibliographic citations.

5. Results and Discussion: *This section* must be presented in a clear way, with the aid of tables, graphs, and figures, so that it does not raise any questions for the reader with regard to the authenticity of the results and points of view discussed.

6. Conclusions: *These* must be clear and presented according to the objectives proposed in the work.

7. Acknowledgements: People, institutions, and companies that contributed to the work should be mentioned at the end of the text, before the Bibliographic References section.

Note:

Notes: Each note regarding the body of the text must be indicated with a superscripted symbol immediately after the phrase it concerns and must be included as a footnote at the end of the page.

Figures: The figures that are deemed essential will be accepted and should be cited in the text by their numeric order, in Arabic numerals. If any submitted illustrations have already been published, the source and permission for publication should be stated.

Tables: Tables should be accompanied by a header that will allow understanding of the data collected without the need to use the body of the text for reference.

Quantities, units, and symbols:

- a) Manuscripts should be in agreement with the criteria established in the International Codes for each subject area.
- b) Use the International System of Units in all text.

- c) Use the negative power format to note and present related units: e.g., kg ha⁻¹. Do not use the forward slash symbol to relate units: e.g., kg/ha.
- d) Use a simple space between units: g L⁻¹, not g.L⁻¹ or gL⁻¹.
- e) Use 24-hour time representation with four digits for the hours and minutes: 09h00, 18h30.

8. In-text author citations

Citations must be followed by the year of publication, and multiple citations should follow the alphabetical order system, according to the following examples:

- a) The results by Dubey (2001) confirmed that
- b) According to Santos et al. (1999), the effect of nitrogen
- c) Beloti et al. (1999b) assessed the microbiological quality
- d) [...] and inhibit the test for syncytium formation (BRUCK et al., 1992).
- e) [...] compromising the quality of its derivatives (AFONSO; VIANNI, 1995).

Citations with two authors

In citations of sources that have two authors, the authors' names are separated by a semicolon when citing them within parentheses.

Ex: (PINHEIRO; CAVALCANTI, 2000).

Use *and* when the authors are included in the sentence rather than cited in parentheses.

Ex: Pinheiro and Cavalcanti (2000).

Citing more than two authors

Indicate the first author followed by the expression *et al.*

Within parentheses, separate references with a semicolon when more than one reference is cited.

Ex: (RUSSO et al., 2000) or Russo et al. (2000); (RUSSO et al., 2000; FELIX et al., 2008).

Citing multiple documents by the same author, published in the same year

Add lowercase letters, in alphabetical order, after the date and without a space.

Ex: (SILVA, 1999a, 1999b).

Citing multiple documents by the same author, published in different years

Separate the dates with a comma.

Ex: (ANDRADE, 1999, 2000, 2002).

Citing various documents by various authors, mentioned simultaneously

Place the citations in alphabetical order, separated by a semicolon.

Ex: (BACARAT, 2008; RODRIGUES, 2003).

9. References: The references, according to the standard NBR 6023, Aug. 2000, and reformulation number 14.724 of the Brazilian Technical Standards Association (ABNT), 2011, must be listed in alphabetical order at the end of the manuscript. **All the authors participating in a referenced study must be mentioned, regardless of the number of participants.** The accuracy and adequacy of references for works that have been consulted and mentioned in the text of the article, as well as opinions, concepts, and statements, are entirely the responsibility of the authors.

Note: Consult recently published issues of *Semina: Ciências Agrárias* for more details about how to format references in the article.

The remaining categories of works (Scientific Communication, Case Report, and Review) must follow the above-mentioned standards but with the following additional directions for each category:

Scientific communication

Scientific communications must be presented in a concise manner but with a complete description of the term research or ongoing research (Introductory note), with complete bibliographic documentation and methodologies, similar to a regular scientific article. Scientific communications must contain the following sections: Title (in Portuguese and English); Abstract with Keywords in Portuguese; Abstract with Keywords in English; and Body of the text. The body of the text should not be divided into sections but should follow this sequence: introduction, methodology, results and discussion (tables and figures may be included), conclusion, and bibliographic references.

Case report

A case report should be a brief description of clinical and pathological cases, unprecedented results, reporting of new species, or studies on the occurrence or incidence of plagues, microorganisms, or parasites of agronomic, zootechnical, or veterinary interest. The case report must contain the following sections: Title (Portuguese and English); Abstract with Keywords in Portuguese; Abstract with Keywords in English; Introduction with a literature review; case report(s), including results, discussion, and conclusion; and bibliographic references.

Bibliographic review articles

Review articles must involve relevant topics within the scope of the journal. The number of review articles per issue is limited, and authors can only write review articles of interest to the journal, following an invitation by the editorial board members of the journal. If a review article is submitted by an author, the inclusion of relevant results from the author or from the group involved in the study is required, along with bibliographic references demonstrating experience and knowledge about the topic.

A review article must contain the following sections: Title (Portuguese and English); Abstract with Keywords in Portuguese; Abstract with Keywords in English; Development of the proposed topic (the text may be divided into sections, but this is not required); Conclusions or Final Considerations; Acknowledgements (if applicable); and Bibliographic References.

Other important information

1. The publication of articles depends on the favorable opinion of ad hoc advisors and the approval of the *Semina: Ciências Agrárias UEL* Editorial Board.
2. Reprints will not be given to the authors, since the issues will be available online at the journal's website (<http://www.uel.br/revistas/uel>).
3. Copyright transfer: The authors agree with the transfer of publication rights of the manuscript to the journal. Reproduction of the articles is only allowed when the source is cited. Commercial use of the information is forbidden.
4. Unforeseen questions about or problems in the present standards will be addressed by the Editorial Board of the subject area in which the article was submitted for publication.
5. *Number of authors:* There is no limit to the number of authors, but people included as co-authors should have effectively participated in the study. People with limited participation in the study or the article preparation should be cited in the Acknowledgements section, as should institutions that granted scholarships and other financial resources.

Submission conditions

As part of our submission process, the authors should verify that the submission conforms to all of the items listed below. Submissions that are not in compliance with the standards will be rejected and the authors informed about the decision.

1. The authors should state that the contribution is original and new and that it is not being assessed for publication elsewhere; any exception(s) should be justified in the “Comments to the Editor.”
2. The authors should also state that the material is correctly formatted and that the Supplementary Documents are attached, BEING AWARE that the **incorrect format will result in the SUSPENSION of the evaluation process WITHOUT EVALUATION OF MERIT.**
3. **Authoring data for all of the authors should be entered in the Metadata field during the submission process.**

Use the button “**include author.**”

1. **In the following step, please fill in the metadata in English.**

In order to include the data, after saving the submission data in Portuguese, click on “**edit metadata**” at the top of the page. Change the language to English and insert the title in English, the abstract, and keywords. Save and continue to the next step.

1. The **authorship identification** of the work should be removed from the archive and from Word using the “Properties” option in order to ensure the anonymity criteria of

- the journal, in case the article is subjected to peer review, according to the directions available at [Ensuring a blind peer review](#).
2. The files for submission should be in Word, OpenOffice, or RTF format (as long as they do not exceed 2 MB).

The text should be typed on A4 paper, with numbered lines, 1.5 line spacing, and Times New Roman size 11 font.

1. Confirm that all ethical standards were followed if the research was performed with living beings. Include proof documents of approval by an institutional ethics committee involving humans and/or an ethics committee involving animals, if these documents are requested.
2. **Include the payment of the [Submission Fee](#), and attach the proof of payment as a supplementary document in “[Docs. Sup.](#)”**

Copyright Declaration

The **Copyright Declaration** for articles published in this journal is the author's right. Since the articles published in this journal are open access, the articles may be used freely, with their own attributions, for educational and non-commercial purposes.

The journal has the right to make changes on a normative, orthographic, and grammatical level in the original articles, with the aim of maintaining proper standard use of the language and the credibility of the journal. Nevertheless, the writing style of the authors will be respected.

Alterations, corrections, or suggestions at a conceptual level, when necessary, will be directed to the authors.

The opinions expressed by the authors of the articles are their exclusive responsibility.

Privacy Policy

The names and affiliations reported in this journal are used exclusively for the services provided and are not made available for any other purpose or to third parties.

Semina: Ciências Agrárias

Londrina - PR

ISSN 1676-546X

E-ISSN 1679-0359

semina.agrarias@uel.br

Submission conditions

As part of our submission process, the authors are obliged to ensure that the submission conforms to all of the items listed below. Submissions that are not in compliance with the standards will be returned to the authors.

1. The authors state that the contribution is original and new and that it is not being assessed for publication in another journal; any exception(s) should be justified in the “Comments to the Editor.”
2. The authors state that the material is correctly formatted and that the Supplementary Files were uploaded, BEING AWARE that the **incorrect format will result in the SUSPENSION of the evaluation process WITHOUT EVALUATION OF MERIT.**
3. **In the next step, fill in the metadata in English.**

To include metadata, after saving the submission data in Portuguese, click on “**edit metadata**” at the top of the page. Change the language to English and insert the title in English, the abstract, and keywords. Save and go to the next step.

1. **Authorship data from all authors should be filled in during the submission process.**

Use the button “**include author.**”

1. Verify that the **authorship identification** of the work has been removed from the archive and from Word using the Properties option in order to ensure the anonymity criteria of the journal, if the article is submitted to peer review according to the directions available at [Ensuring a blind peer review](#).
2. The files for submission are in Word, OpenOffice, or RTF formats (as long as they do not exceed 2 MB).

The text is written with 1.5 line spacing and in Times New Roman size 11 font. Use italics instead of underline (except for URL addresses).

The text follows the style patterns and bibliographic requirements described in [Guidelines for Authors](#) under the heading “About the Journal.”

1. Confirm that all ethical standards were followed if the research was performed with living beings. Provide documentation of the approval of an institutional ethics committee and proof of informed consent if these documents are requested. Compliance with the applicable ethical precepts should be cited in the text body.
2. A text indicating the relevance of the work (importance and distinction with respect to other works already published), with a maximum length of 10 lines, must be included in the field **COMMENTS TO THE EDITOR.**

Copyright Declaration

The **Copyright Declaration** for articles published in this journal is the author’s right. Since the articles that are published in this journal are open access, the articles may be used freely, with their own attributions, for educational and non-commercial purposes.

The journal has the right to make changes on a normative, orthographic, and grammatical level in the original articles, with the aim of maintaining proper standard use of the language

and the credibility of the journal. Nevertheless, the writing style of the authors will be respected.

Alterations, corrections, or suggestions at the conceptual level, when necessary, will be directed to the authors. In these cases, after being changed, the articles will be subjected to a new assessment.

The opinions expressed by the authors of the articles are their exclusive responsibility.

Privacy Policy

The names and affiliations reported in this journal are used exclusively for the services provided and are not made available for any other purpose or to third parties.

Semina: Ciências Agrárias

Londrina - PR
ISSN 1676-546X

E-ISSN 1679-0359

semina.agrarias@uel.br