

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE ENGENHARIAS, CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

RUBIA FERNANDA SOARES

EFEITO DO USO DE PROBIÓTICO NA CAMA DE COMPOSTAGEM DE
VACAS LEITEIRAS SOBRE OS PARÂMETROS QUÍMICOS E
MICROBIOLÓGICOS DO LEITE

PONTA GROSSA

2023

RUBIA FERNANDA SOARES

EFEITO DO USO DE PROBIÓTICO NA CAMA DE COMPOSTAGEM DE
VACAS LEITEIRAS SOBRE OS PARÂMETROS QUÍMICOS E
MICROBIOLÓGICOS DO LEITE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
para a obtenção do título de Bacharelado em
Zootecnia na Universidade Estadual de Ponta
Grossa, Área de Ciências Agrárias e Tecnologia.

Orientador (a): Prof.^a Dr.^a Adriana de Souza
Martins.

PONTA GROSSA
2023

Dedico aos meus pais, Cintia e Wagner Soares.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pela minha vida, pela oportunidade de seguir meus sonhos e por ter me sustentado em toda essa trajetória, e a Nossa Senhora Aparecida, mãe de Deus, a quem sou devota, por todas as graças recebidas.

Aos meus pais Cintia Bueno e Wagner Soares, e a minha irmã Eloa Soares, que são à base da minha vida, por sempre me apoiarem, incentivarem e nunca medirem esforços para que tudo desse certo.

Ao meu namorado Matheus Bonawitz, que acompanhou todo processo de perto, por sempre estar ao meu lado e me apoiar em todas as decisões, você foi essencial para que tudo acontecesse.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Adriana de Souza Martins, por toda experiência e conhecimentos compartilhados, pela paciência, e pelas conversas de apoio e incentivo. A senhora, minha eterna gratidão.

Um agradecimento especial a minha melhor amiga e companheira de curso Eduarda Carneiro Araújo, pelo apoio durante todos esses anos de vida acadêmica, pela amizade maravilhosa que construímos, por ser minha maior incentivadora e por nunca ter me deixado desistir. A nossa amizade tornou essa caminhada muito mais leve e especial. Obrigada por tudo, de coração.

À todos os meus amigos, que sempre estiveram do meu lado, excepcionalmente ao Renan Ribeiro, pela ajuda durante a execução do experimento, pelas risadas, conversas e por todo o apoio.

E por fim, gostaria de agradecer à Cooperativa Agroindustrial Frísia, ao Rildo e a todos os técnicos que fazem parte desta equipe. Agradeço pela oportunidade concedida e por todo o conhecimento compartilhado.

Obrigada a todos!

RESUMO

Com a modernização do setor leiteiro e aumento do potencial de produção dos rebanhos, os produtores buscam alternativas para aumentar sua produtividade, a partir dos sistemas de confinamento *Free Stall* e *Compost Barn*. O objetivo deste estudo foi analisar o potencial de um probiótico em camas de compostagem para vacas leiteiras e seu efeito sobre os parâmetros químicos, físicos e microbiológicos do leite. O produto foi testado em quatro propriedades leiteiras, localizadas no município de Carambeí/PR, que utilizaram os sistemas *Free Stall* e *Compost Barn*. Foram feitas aplicações do produto diretamente sobre a cama de compostagem e coletadas amostras da cama e do leite. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com dois tratamentos e quatro repetições por tratamento, com medidas repetidas no tempo. A comparação entre as médias foi analisada pelo teste T, ao nível de 5% de significância. A aplicação do probiótico na cama de compostagem das vacas não alterou ($P>0,05$) o teor de umidade da cama, nem a composição do leite, a CCS e o perfil microbiológico do leite. Alguns fatores podem ter limitado a ação do probiótico sobre a cama, tais como as baixas temperaturas e a ocorrência de chuvas durante a condução do experimento.

Palavras-chave: Cama de compostagem, Composição do leite, Cultura microbiológica, Probiótico, Vacas leiteiras.

ABSTRACT

With the modernization of the dairy sector and the increase in the production potential of herds, producers seek alternatives to increase their productivity, starting with the Free Stall and Compost Barn confinement systems. The objective of this study was to analyze the potential of a probiotic in composting beds for dairy cows and its effect on the chemical, physical and microbiological parameters of the milk. The product was tested in four dairy farms, located in the municipality of Carambeí/PR, which used the Free Stall and Compost Barn systems. Applications of the product were made directly on the composting bed and samples of the bed and milk were collected. The experimental design was entirely randomized with two treatments and four repetitions per treatment, with repeated measures in time. The comparison between means was analyzed by the T test, at 5% significance level. The application of the probiotic in the cows' composting bed did not alter ($P>0.05$) the moisture content of the bed, nor the composition of the milk, the SCC and the microbiological profile of the milk. Some factors may have limited the action of the probiotic on the bedding, such as low temperatures and the occurrence of rain during the conduction of the experiment.

Keywords: Composted bed, Dairy Cows, Milk composition, Microbiological culture, Probiotic.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Frequência Relativa (%) de ocorrência dos microrganismos no leite de vacas em sistema de *Compost Barn* e *Free Stall*, sem a aplicação do probiótico (SEM) e com a aplicação do probiótico (COM) na cama de compostagem.....20

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Análise de variância (ANOVA) do teor de umidade da cama, da composição do leite (proteína, gordura, lactose, sólidos totais), da contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) em função do tratamento (uso ou não do probiótico) e dos períodos de aplicação do probiótico na cama de compostagem de vacas leiteiras..... | 16 |
| Tabela 2 - Valores médios da temperatura ambiente e umidade relativa do ar durante a realização do experimento nas propriedades leiteiras avaliadas | 17 |
| Tabela 3 - Valores médios do teor de umidade da cama, composição do leite das vacas nas camas com e sem a aplicação do probiótico, contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) | 18 |

LISTA DE ABREVIATURAS

ASA – Amostra seca ao ar

ASE – Amostra seca em estufa

CBT – Contagem bacteriana total

CCCP – Cama de compostagem com a adição do probiótico

CCS – Contagem de células somáticas

CCSP – Cama de compostagem sem a adição do probiótico

CO₂ – Dióxido de carbono

CPP – Contagem padrão em placas

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MS – Matéria seca

NS – Não significativo

pH – Potencial hidrogeniônico

UEPG – Universidade Estadual de Ponta Grossa

UFC – Unidades formadoras de colônias

UR – Umidade relativa

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 9 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS | 12 |
| 2.1. Descrição dos sistemas de criação | 12 |
| 2.2. Descrição do produto e forma de aplicação | 13 |
| 2.3. Análises laboratoriais..... | 15 |
| 2.4. Delineamento estatístico | 16 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 16 |
| 4. CONCLUSÃO | 21 |
| 5. REFERÊNCIAS | 23 |

1. INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva do leite é uma das principais atividades econômicas do Brasil, com forte efeito na geração de empregos e renda. Presente em quase todos os municípios brasileiros, a atividade envolve mais de um milhão de produtores no campo, além de gerar outros milhões de empregos nos demais segmentos da cadeia (ROCHA *et al.*, 2020).

No ano de 2020 a produção de leite no país atingiu 35,4 bilhões de litros, representando avanço de 1,5% quando comparado a 2019 (CNA, 2021). Além do maior produtor de leite do Brasil, o Estado de Minas Gerais é responsável por 27% da produção nacional, seguido pelo Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Goiás. Estes estados têm se destacado nos últimos anos como principais produtores (IBGE, 2022).

As projeções do agronegócio da Secretaria de Política Agrícola estimam que, para 2030, irão permanecer na atividade leiteira apenas os produtores mais eficientes, que se adaptarem à nova realidade de adoção de tecnologias, buscando melhorias na gestão e maior eficiência econômica, reduzindo os custos de produção e aumentando a produtividade (ROCHA *et al.*, 2020).

A pecuária leiteira tem apresentado avanços expressivos nas últimas décadas, especialmente quanto ao melhoramento genético, maior tecnificação nas instalações, nos sistemas de ordenhas, nutrição e no gerenciamento dos rebanhos (DAMASCENO, 2020).

Com a modernização do setor leiteiro, os produtores de leite buscam alternativas para aumentar sua produtividade. Dentre elas, a intensificação da produção, a partir dos sistemas de confinamento de vacas leiteiras, vem sendo muito utilizada (PILATTI, 2017). Entretanto, os sistemas convencionais de confinamento podem apresentar pontos críticos, principalmente em relação aos aspectos de bem-estar animal, devido à limitada liberdade de deslocamento dos animais e a pequena área de descanso disponível, acarretando lesões nos jarretes e cascos (BARBERG *et al.*, 2007).

Quando se pensa em confinar animais, as opções mais difundidas são instalações do tipo *Free Stall* e do tipo *Compost Barn* (CECCHIN, 2012). O sistema *Free Stall* caracteriza-se pela presença de baias individuais, corredores de acesso e pistas de trato dos animais. As baias são providas de cama, com materiais diversos, podendo ser maravalha, areia, casca de arroz, entre outros. Para que se tenha um bom resultado com a implantação do sistema *Free Stall*, o projeto deverá considerar as dimensões de cocho, área de descanso (baias), área de movimentação, alocação dos bebedouros e as aberturas para ventilação adequadas (MARTELLO, 2006).

Por outro lado, o sistema *Compost Barn* caracteriza-se por uma grande área de descanso coletivo, composta de material orgânico como a serragem, maravalha ou outro material orgânico de fácil aquisição, com altura de 30 a 50 cm, ficando esta cama separada da pista de alimentação (DAMASCENO, 2020; SHANE *et al.*, 2010).

O manejo da cama é o ponto chave para o sucesso do *Compost Barn*, devido ao processo de compostagem que ocorre ao longo do tempo e a necessidade de revolvimento (aeração) constante. O revolvimento diário do material a ser decomposto auxilia na perda de umidade da cama para o ambiente, no processo de incorporação do oxigênio e na não compactação do material da cama (JANNI *et al.*, 2007). Sendo assim, o intuito do sistema é a compostagem da cama, preservando um ambiente seco e macio para as vacas (DAMASCENO, 2020). A compostagem é um processo de decomposição e estabilização biológica dos substratos orgânicos sob condições que favorecem a produção de calor através da ação microbiana. Neste processo, os microrganismos promovem a oxidação biológica do material e decompõem seus constituintes liberando CO₂ e vapor de água (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

A observação dos elementos do ambiente é de fundamental importância para que o sistema tenha um bom sucesso. Dessa maneira, falhas no dimensionamento, o manejo inadequado do sistema e dos animais, bem como a falta de climatização podem colocar em risco o empreendimento (NOGARA, 2022).

Outro fator que pode prejudicar a qualidade da cama no sistema *Compost Barn* é a lotação excessiva dos animais. Segundo Soares (2019) quando os animais se aglomeram em locais do confinamento mais confortáveis, estes terão maior acúmulo de dejetos e, conseqüentemente, maior compactação devido ao excesso de umidade. Tal processo restringe a entrada de oxigênio, afetando a qualidade do material de compostagem (COTTA *et al.*, 2015).

Portanto, a densidade ótima de vacas em um galpão depende da quantidade de esterco e urina depositada na cama de compostagem (BLACK *et al.*, 2013). Segundo ROTTA *et al.* (2019), para não comprometer a compostagem adequada da cama, atualmente utiliza-se área de 10 a 15 m²/animal, e para regiões com clima mais úmido, cerca 20 m²/vaca.

Os sistemas alternativos de alojamento para vacas leiteiras priorizam o bem-estar animal, garantindo o maior conforto nas áreas de cama e saúde do animal (MEINL, 2022; PILATTI, 2017). Bewley *et al.* (2017) observaram que sistemas de livre circulação para o confinamento de vacas leiteiras, como o *Compost Barn*, tornaram-se de grande interesse, já

que existe um crescente foco em preservar o bem-estar animal, fornecendo espaço para que as vacas possam expressar seu comportamento natural (Beaver *et al.*, 2019).

Além dos aspectos relacionados ao bem-estar animal, especialmente menor ocorrência de claudicação, de lesões no jarrete, e comportamento mais natural, os sistemas alternativos de confinamento para vacas leiteiras possibilitam a redução da emissão de gases, a reutilização de produtos residuais e o controle de variáveis climáticas, garantindo aos animais condições ambientais favoráveis, resultando em maior produção de leite devido a desafios menos estressantes (GALAMA *et al.*, 2020; NOGARA, 2022).

Outra vantagem da cama de compostagem, está relacionada a melhora das qualidades higiênico-sanitárias do leite (MARTINS, 2021). O leite de qualidade deve apresentar composição química, microbiológica e número de células somáticas que atendam aos parâmetros exigidos nacionalmente, estabelecidos pela Instrução Normativa n. 51, de 18 de setembro de 2002 (ROSA *et al.*, 2012).

A qualidade e composição do leite são reflexos da combinação de multifatores do sistema de produção, como a nutrição, ambiência, sanidade e manejo. Entretanto, quando o manejo nos sistemas *Free Stall* e *Compost Barn* é realizado de forma satisfatória (manejo de cama, densidade animal e ventilação suficiente), o estresse térmico é reduzido, refletindo em bons índices produtivos (NOGARA, 2022). Além disso, se bem manejados, estes sistemas garantem uma boa saúde de úbere, devido a redução na contagem de células somáticas (CCS) do rebanho, aliado a menor contagem bacteriana total (CBT) da cama, já que os animais passam a estar em um local com cama seca e confortável, proporcionando o alcance de altas temperaturas que favorecem a compostagem, controlando a proliferação de agentes causadores de mastite (SILVA, 2018).

A mastite pode ser ocasionada por diversos microorganismos, cujo grupo mais abundante é o das bactérias. A doença provoca uma série de alterações físico-químicas no leite, como modificações do pH, diminuição do extrato seco total (caseína, gordura, lactose), aumento de minerais, como sódio e cloro, e diminuição do cálcio e fósforo. Dentre os métodos diretos para o diagnóstico da mastite, está o de Prescott e Breed, baseado no princípio da contagem de leucócitos do leite, a partir da qual se pode ter um indicativo do grau de infecção do úbere (TRONCO, 2010).

Mediante o exposto, devido aos inúmeros desafios encontrados em sistemas de confinamento, verifica-se a necessidade de encontrar estratégias que viabilizem estes sistemas de criação, reduzindo os impactos negativos da umidade da cama sobre o desempenho dos animais confinados e a qualidade final do leite.

Desta forma, entre as alternativas para acelerar a decomposição da matéria orgânica e promover o equilíbrio dos microrganismos na cama de composto, está o uso de probióticos comerciais. Estes contêm microrganismos naturais benéficos, altamente eficientes e não patogênicos, como as leveduras e bactérias ácido-láticas. Seu modo de ação ocorre por meio da degradação dos compostos orgânicos da cama (minerais, açúcares, proteínas, gorduras) promovendo a rápida decomposição da matéria orgânica e liberação de nutrientes. Sua ação ocorre por meio de duas vias primárias: pela exclusão competitiva de outros microrganismos indesejáveis que causam doenças e maus odores, e também pela produção de compostos bioativos benéficos que proporcionam o bem-estar dos animais (ácidos orgânicos, aminoácidos, enzimas, antioxidantes e antibióticos naturais).

O objetivo deste estudo foi analisar o potencial de um probiótico na decomposição de camas de compostagem para vacas leiteiras e seu efeito na composição química e microbiológica do leite: teor de sólidos totais, cultura bacteriana total (CBT) e contagem de células somáticas (CCS).

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido a partir de uma parceria da Cooperativa Agroindustrial Frísia com a Universidade Estadual de Ponta Grossa-PR, com o propósito de testar a eficácia de um probiótico em camas de compostagem de vacas em lactação mantidas em sistema de confinamento (*Compost Barn* e *Free Stall*). A duração do experimento foi de 13/09/2022 a 21/10/2022, compreendendo seis semanas. O produto foi testado em quatro propriedades leiteiras, localizadas no município de Carambeí/PR, sendo três propriedades utilizando o sistema de *Compost Barn* e uma com o sistema *Free Stall*.

O município de Carambeí/PR apresenta uma área de 644,25 km² de extensão. O clima predominante, segundo a classificação de Köppen é o Cfb, com verões brandos, precipitação pouco superior a 1.400 mm e com chuvas bem distribuídas durante o ano (BOGNOLA *et al.*, 2002). A temperatura média anual da região indica valores entre 16° C a 20° C, variando de acordo com a estação do ano (TSUKAHARA *et al.*, 2003).

2.1. Descrição dos sistemas de criação

As três propriedades com sistema de criação em *Compost* apresentaram um número de animais e instalações distintas. A Propriedade 1, pertencente à Bauke van Westering, possuía

72 vacas em lactação, das raças Holandesa, Jersey, e mestiças Holandes x Jersey. As vacas foram alojadas sob uma densidade animal de 15 m²/vaca. Nesta propriedade, a instalação não contou com o uso de ventiladores durante o experimento. O manejo de aeração da cama durante o experimento foi realizado duas vezes por dia, de manhã e à tarde, com um escarificador.

A propriedade 2, do produtor Dirk Marinus van Vliet, contou com 141 vacas em lactação, da raça Holandesa, alojadas sob densidade animal de 14 m²/vaca. A instalação dispunha de ventiladores. A terceira propriedade, de Daniel Dolizete Ribeiro, apresentou 30 vacas em lactação, das raças Jersey, Holandesa, e mestiças Holandês x Jersey, mantidas sob densidade de 13 m²/vaca. Nesta última, o manejo de aeração da cama durante o experimento foi realizado duas vezes ao dia, de manhã e à tarde, com enxada rotativa. A instalação não apresentou ventiladores. Nas três propriedades a reposição da cama foi realizada quando esta encontrava-se muito úmida (acima de 60%) e de acordo com a disponibilidade de serragem.

A propriedade 4, pertencente ao produtor Dalvan Floriano Félix Ribeiro, dispunha de 25 vacas em lactação, da raça Jersey, alojadas em sistema de *Free Stall*. As dimensões da instalação foram 10 m de largura por 15 m de comprimento, contendo 25 camas, com 1,5 m de comprimento por 1 m de largura, e profundidade de 15 cm. O material utilizado na cama foi a serragem e seu manejo foi realizado diariamente, com a reposição de serragem e limpeza. A instalação dispunha de ventiladores.

2.2. Descrição do produto e forma de aplicação

O produto comercial utilizado no experimento foi composto de probióticos (leveduras e bactérias ácido-láticas - *Lactobacillus*). Os probióticos estavam na forma líquida e foram diluídos previamente para a aplicação na cama. Uma semana antes da aplicação, o produto foi ativado com melaço de cana, que serviu de substrato para os microrganismos, na proporção de 90 litros de água, 5 kg de melaço e 5 kg do produto, e armazenado em um galão. No dia da aplicação, o produto foi diluído na proporção de 19 litros de água para 1 litro do produto. Para a aplicação na cama, o probiótico já diluído foi aplicado na proporção de 1 litro para cada 300 m² de cama de compostagem.

No início do experimento, considerado dia zero, cada sistema de criação (*Compost Barn* e o *Free Stall*) foram divididos em duas áreas de mesma dimensão, para que fosse analisado o efeito do probiótico na cama de compostagem a partir de dois tratamentos distintos: SEM a adição do probiótico e COM a adição de probiótico na cama de

compostagem. Sendo assim, uma das áreas foi utilizada como controle, sem nenhum produto incorporado a cama, identificada como Cama de Compostagem Sem a adição do Probiótico (CCSP), e na outra área, foi incorporado o produto, aplicado com o auxílio de um pulverizador costal sobre a superfície da cama, sendo identificada como Cama de Compostagem Com a adição do Probiótico (CCCP).

As duas áreas da instalação (tratada e não tratada) do *Compost Barn* foram identificadas por meio de um *spray* colorido, aplicado na parte de concreto da instalação. Desta forma, não houve uma divisão física das áreas tratadas ou não com o probiótico e, portanto, as vacas transitaram livremente dentro da instalação, na parte tratada e não tratada, durante a condução do experimento.

Na propriedade com sistema *Free Stall*, o produto foi mais diluído (200 ml do produto em 1,8 litros de água), seguindo a recomendação do fabricante, uma vez que a quantidade de dejetos na cama é menor em comparação com o sistema *Compost Barn*. A quantidade de probiótico aplicada foi proporcional à área de aplicação das camas no *Free Stall*. Foram selecionadas aleatoriamente 10 camas, sendo que em 5 delas foi aplicado o probiótico e nas outras 5 não se realizou a aplicação.

As aplicações do probiótico nas camas de ambos os sistemas foram realizadas a partir da segunda semana do experimento e se estenderam até a quinta semana. Na 1ª semana do experimento, não foi realizada a aplicação do produto, sendo apenas registrados os dados de temperatura ambiente e umidade relativa do ar (UR). Também foram coletadas sete sub-amostras da cama de compostagem, em sete pontos da área tratada com o produto e sete pontos da área testemunha. As sub-amostras foram homogeneizadas e em seguida coletou-se uma amostra composta para análises laboratoriais. Todos os procedimentos descritos foram realizados no período da manhã, com início às 08:00 horas e término por volta das 10:00 horas, durante três dias da semana (dias 13, 14 e 16/09/2022).

Na 2ª semana do experimento, foi dado início às aplicações. Foram realizadas três aplicações do produto nas camas, nos dias 20, 21 e 23/09/2022, conforme descrito anteriormente. Em cada dia de aplicação foram realizados os mesmos procedimentos descritos na 1ª semana (registros de temperatura, UR e coleta de amostras), porém, incluindo a aplicação do probiótico.

Os mesmos procedimentos da segunda semana se repetiram para a 3ª semana, sendo realizadas aplicações nos dias 27, 28 e 30/09/2022; para a 4ª semana (aplicações feitas nos dias 04, 05 e 07/10/2022), para a 5ª semana, nos dias 11, 12 e 14/10/2022 e para a 6ª semana

(18, 19 e 21/10/2022). Desta forma, foram realizadas 15 aplicações do probiótico durante o período experimental, sendo três aplicações por semana durante cinco semanas.

2.3. Análises laboratoriais

As amostras da cama de compostagem das propriedades foram armazenadas em sacos plásticos, devidamente identificados. De cada propriedade, as amostras compostas da cama tratada ou não tratada foram armazenadas sob congelamento, à -10° C, para posterior análise dos teores de matéria seca (MS), no laboratório de Nutrição Animal da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

As amostras foram descongeladas e secas em estufa de ventilação forçada à 60° C durante 72 horas para determinação do teor de ASA (%), sendo analisadas em duplicata. Após 72 horas, as amostras foram pesadas novamente e o teor de ASA foi calculado com base no peso da amostra seca e peso da amostra verde. Após a obtenção da ASA, as amostras foram moídas em moinho tipo Willey. Posteriormente, realizou-se a secagem definitiva das amostras para determinação do teor de ASE (%), de acordo com a metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002), em estufa à 105° C durante 16 horas. O teor de MS (%) foi calculado multiplicando-se o teor (%) de ASA por ASE, divididos por 100. A umidade total (%) foi obtida pela diferença de 100 – Matéria Seca (%).

Foram coletadas amostras do tanque de resfriamento de leite de cada propriedade, utilizando tubos de centrifugação estéreis de 15 ml. As amostras de leite foram coletadas no início do experimento, nos dias 14 e 15/09/2022, durante o experimento (nos dias 20 e 21/09/2022, e 14/10/2022), e na 5ª semana, no dia 21/10/2022. Imediatamente após as coletas, as amostras de leite foram levadas ao laboratório LabVet Patologia Animal para análises de CBT, que foi realizada pela Contagem Padrão em Placas (CPP), com o auxílio de um contador de colônias.

Analisou-se também a composição química do leite (teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais) e a contagem de células somáticas (CCS) do leite. Os dados de composição e CCS do leite foram obtidos dos controles leiteiros oficiais das propriedades. A comparação dos registros de análises do leite foi realizada da seguinte forma: registros do controle leiteiro dos produtores realizados antes da data de início do experimento (dois controles leiteiros) e durante a realização do experimento (dois controles leiteiros), sendo denominados os tratamentos: sem aplicação do produto e com a aplicação do produto, respectivamente.

2.4. Delineamento estatístico

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com dois tratamentos e quatro repetições (propriedades leiteiras), com medidas repetidas no tempo (três vezes por semana durante cinco semanas). Para a comparação das médias de cada variável foi utilizado o teste F a 5% de significância. Para a análise estatística dos dados de CBT e CCS, os valores foram transformados para a escala logarítmica (log10). Utilizou-se o Programa Estatístico SAS (versão 9.4).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação do probiótico na cama de compostagem das vacas não alterou ($P>0,05$) o teor de umidade da cama e nem a composição do leite (Tabela 1). Segundo Damasceno (2020), entre os fatores que influenciam o processo de compostagem da cama estão todos aqueles que afetam a atividade microbológica, como o teor de umidade, a concentração de nutrientes, a aeração, a temperatura, a granulometria da cama e o pH.

Tabela 1 - Análise de variância (ANOVA) do teor de umidade da cama, da composição do leite (proteína, gordura, lactose, sólidos totais), da contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) em função do tratamento (uso ou não do probiótico) e dos períodos de aplicação do probiótico na cama de compostagem de vacas leiteiras

| Variável | Tratamento ¹ | | Aplicação ² | |
|----------------------------|-------------------------|----|------------------------|----|
| | Fvalue | P | Fvalue | P |
| Umidade da cama (%) | 0,04 | NS | 0,38 | NS |
| <i>Composição do leite</i> | | | | |
| Proteína (%) | 1,73 | NS | - | - |
| Gordura (%) | 1,01 | NS | - | - |
| Lactose (%) | 1,72 | NS | - | - |
| Sólidos Totais (%) | 0,71 | NS | - | - |
| CCS (cel/mL) | 0,59 | NS | - | - |
| CBT do leite (UFC/mL) | 1,54 | NS | - | - |

¹Com ou sem a aplicação do probiótico na cama de compostagem das vacas. ²Sem aplicação: de 13 a 16/09/2022; 1^a, 2^a e 3^a aplicação: 20, 21 e 23/09/2022; 4^a, 5^a e 6^a aplicação: 27, 28 e 30/09/2022; 7^a, 8^a e 9^a aplicação: 4, 5 e 7/10/2022; 10^a, 11^a e 12^a aplicação: 11, 12 e 14/10/2022; 13^a, 14^a e 15^a aplicação: 18, 19 e 21/10/2022. *Significativo a 5%.

Fonte: A autora

Neste caso, certos fatores relacionados ao manejo das camas de compostagem durante a execução do trabalho devem ser considerados, já que estes podem ter interferido nos resultados. No dia a dia de cada propriedade, não foi possível isolar alguns fatores de

variação, como a divisão das áreas das instalações tratadas ou não tratadas com o produto nos sistemas de *Compost Barn*. Dessa forma, os animais acabaram se deslocando na área tratada e não tratada com o probiótico, fato este que pode ter mascarado um possível efeito do probiótico sobre a cama. Adicionalmente, o processo de aeração também pode ter comprometido o resultado, uma vez que nem sempre foi possível realizar o manejo de aeração sem qualquer contato entre as camas tratadas ou não com o produto.

A Tabela 2 apresenta os valores médios de temperatura ambiente e umidade relativa do ar, obtidas durante o período de experimento.

Tabela 2 - Valores médios da temperatura ambiente e umidade relativa do ar durante a realização do experimento nas propriedades leiteiras avaliadas

| Variável | Semana | | | | | |
|----------------------------|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Temperatura ambiente (°C) | 16,5 ± 1,79 | 15,6 ± 1,46 | 15,1 ± 1,43 | 17 ± 1,98 | 18,8 ± 1,55 | 18,8 ± 2,53 |
| Umidade relativa do ar (%) | 80 ± 11,02 | 78 ± 16,12 | 86 ± 5,49 | 73 ± 11,70 | 81 ± 6,33 | 82 ± 6,79 |

Propriedades localizadas no município de Carambeí/PR.

Fonte: A autora

Com relação aos registros de temperatura ambiente, durante praticamente todo experimento, esta manteve-se relativamente baixa, apresentando médias diárias de 13° C nos dias mais frios, e 22° C em dias de mais quentes, com ocorrência de chuvas em alguns dias de avaliação e altas taxas de umidade relativa. Foram obtidas médias de UR de 80,2%, variando de 51% (um registro) a 100% (um registro). Segundo Nogara (2022), além dos dejetos animais, as condições de temperatura ambiente e umidade relativa do ar também afetam as taxas de secagem na cama.

Uma vez que a atividade microbiológica é dependente das condições de temperatura e umidade da cama, sistemas de compostagem localizados em regiões que apresentam baixas temperaturas e alta umidade relativa do ar tornam-se grandes desafios, visto que podem limitar a ação microbiana e também de probióticos sobre o material a ser decomposto. Neste caso, a temperatura no processo de compostagem na cama é comprometida, sendo necessária a implantação de um sistema de ventilação artificial para auxiliar no processo de secagem da mesma (KAPPES *et al.*, 2020; JANNI *et al.*, 2007).

Além disso, vale ressaltar que duas das quatro propriedades avaliadas não possuíam ventiladores. De acordo com Bewley *et al.* (2012), ventiladores são recomendados para ajudar

a manter a cama seca e a ventilação ao longo de todo o estábulo, sendo que a ventilação de alto volume e baixa velocidade, com ventiladores de teto, tem mostrado bons resultados.

O teor de umidade presente na cama pode contribuir para a ocorrência de mastite ambiental, afetando a qualidade do leite (FÁVERO *et al.*, 2015). Isso ocorre, devido à relação que se tem entre a umidade da cama e o escore de sujeira dos animais, sendo, portanto, indicada a manutenção de baixos teores de umidade na superfície da cama (<50%), o que garante uma melhor condição de limpeza aos animais e menores chances de contaminação por microrganismos causadores de mastite (OLIVEIRA *et al.*, 2021).

Os valores médios dos teores de umidade da cama e os parâmetros físico-químicos do leite, como a composição, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total, são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Valores médios do teor de umidade da cama, composição do leite das vacas nas camas com e sem a aplicação do probiótico, contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT)

| Variável | Tratamento | | |
|----------------------------|------------|---------|----|
| | CCSP | CCPP | P |
| Umidade da cama (%) | 61,27 | 61,16 | NS |
| <i>Composição do leite</i> | | | |
| Proteína (%) | 3,42 | 3,50 | NS |
| Gordura (%) | 4,07 | 4,03 | NS |
| Lactose (%) | 4,40 | 4,50 | NS |
| Sólidos Totais (%) | 12,92 | 13,06 | NS |
| CCS (cél/mL) | 499.000 | 397.000 | NS |
| CBT do leite (UFC/mL) | 10.760 | 9.407 | NS |

CCSP = cama de compostagem sem a aplicação do probiótico. CCPP= cama de compostagem com a aplicação do probiótico. *Significativo a 5%.

Fonte: A autora

De acordo com os dados apresentados, pode-se observar que não houve mudanças significativas com e sem a aplicação do probiótico ($P > 0,05$), sendo que em ambos os casos, a variação da umidade da cama manteve-se em torno de 61%. Para que ocorra uma boa compostagem da cama é necessário que ela apresente umidade entre 40-60% (NOGARA, 2022). Sendo assim, o teor médio de umidade apresentou-se acima do limite superior de umidade recomendado para camas de compostagem. A ocorrência de umidade excessiva inibe a atividade de bactérias aeróbicas, devido à maior compactação (menor disponibilidade de oxigênio), comprometendo o processo de compostagem (SAWATZKY, 2015). Portanto, realizar o manejo diário da cama torna-se imprescindível. É recomendado o revolvimento do material duas vezes ao dia (MOTA *et al.*, 2019), para que as camadas secas sejam trazidas

para a superfície, e a umidade superficial seja incorporada nas camadas mais profundas, juntamente com a urina e as fezes, proporcionando a atividade microbiana e o alcance de altas temperaturas (JANNI *et al.*, 2007).

Segundo Leso *et al.* (2020), o indicador para o funcionamento adequado do processo de compostagem é o alcance de altas temperaturas, já que estas são capazes de otimizar a evaporação da umidade e eliminar microrganismos patogênicos causadores de mastite (BLACK *et al.*, 2013). Situações de baixa temperatura da cama, excesso de umidade e excesso de matéria orgânica indicam que é necessário fazer adição do material de cama para renovar a fonte de carbono que foi consumida pelo processo de degradação pelos microrganismos (CALDATO, 2019).

A utilização de probióticos a base de leveduras e bactérias ácido-láticas é realizada para melhorar as condições físico-químicas e microbiológicas do material de compostagem, visto que ajudam acelerar o processo de decomposição dos resíduos orgânicos presentes na cama, sendo possível reduzir a umidade do material, através da maior produção de calor no interior do composto (FERREIRA; RIBEIRO, 2022). Entretanto, neste estudo devem ser considerados alguns fatores ambientais, como as altas taxas de UR e baixas temperaturas registradas no decorrer do experimento, já que estas podem ter limitado a ação do probiótico, que não apresentou o efeito desejado na redução dos teores de umidade da cama.

Com relação à composição do leite (Tabela 3) verificou-se que o tratamento da cama com probiótico não influenciou nos resultados. Os valores mínimos para proteína, gordura e lactose, recomendados pela legislação (BRASIL, 2018), são de 2,9, 3,0 e 4,3%, respectivamente (TRONCO, 2010). Portanto, a composição do leite no referido trabalho atende à legislação do MAPA. Outros autores encontraram médias de proteína no leite, para vacas alojadas em sistema de *Compost Barn* que variaram entre 3,18 a 3,39% (DAMASCENO *et al.*, 2020), próximos ao encontrado neste estudo.

Por outro lado, os níveis de contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) do leite não sofreram influência ($P > 0,05$) do uso do probiótico nas camas, porém, a CCS foi numericamente menor com a aplicação do probiótico. Esta redução numérica poderia ser explicada pela melhor atividade biológica do composto com a utilização do probiótico que, além de acelerar o processo de compostagem, promoveria a exclusão competitiva de outros microrganismos nocivos à glândula mamária de vacas leiteiras, causando, conseqüentemente, redução na CCS do leite.

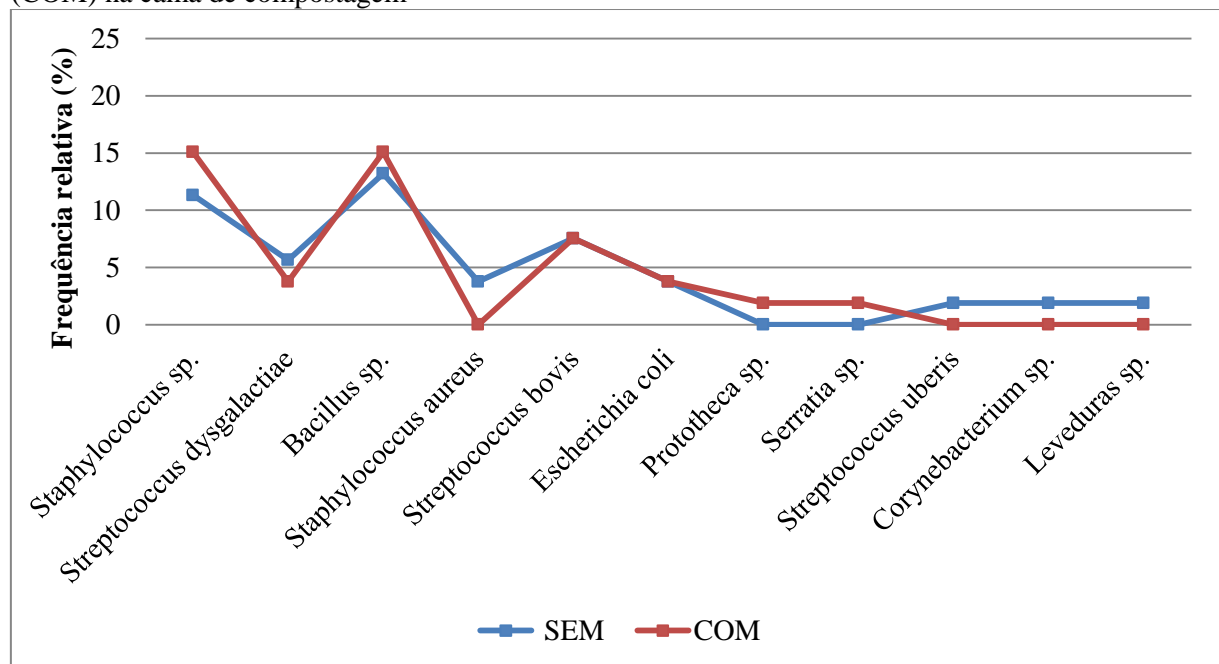
Pode-se observar que a variação da concentração de células somáticas do leite (CCS) com a aplicação ou não do probiótico, não apresentou efeito na concentração de sólidos no

leite, que foi de 12,92% sem a aplicação do probiótico e 13,03% com a aplicação. Segundo Machado *et al.* (2000), altas CCS ocasionam inúmeras mudanças na composição do leite, comprometendo sua qualidade, pois alteram a permeabilidade dos vasos sanguíneos da glândula mamária e reduzem a secreção dos componentes do leite nela sintetizados (proteína, gordura e lactose) através da ação direta dos patógenos ou de enzimas sobre estes componentes.

Nogara (2022) realizou um estudo comparando os parâmetros físico-químicos do leite em diversas propriedades com sistema de confinamento *Compost Barn*, no estado do Paraná. O autor constatou melhorias na composição do leite das vacas alojadas neste sistema, como aumentos nos teores de gordura e proteína do leite, explicados pela redução da CCS, correlacionada a menor CBT da cama. No entanto, este efeito não é apenas um reflexo do sistema, mas também de outros fatores como genética, número de lactações, manejo nutricional, saúde do rebanho e dos parâmetros de compostagem (umidade, temperatura e pH).

A Frequência Relativa dos microrganismos no leite de vacas mantidas em cama de compostagem sem a aplicação do probiótico (SEM) ou com a aplicação do probiótico (COM) em função do período de aplicação, é apresentada no Gráfico 1.

Gráfico 1 - Frequência Relativa (%) de ocorrência dos microrganismos no leite de vacas em sistema de *Compost Barn* e *Free Stall*, sem a aplicação do probiótico (SEM) e com a aplicação do probiótico (COM) na cama de compostagem



Fonte: A autora

Verificam-se algumas variações da frequência dos microrganismos patogênicos no leite, porém, sem uma relação clara sobre o efeito do uso do probiótico. Alguns estudos têm mostrado que uma boa saúde do úbere pode ser alcançada em sistemas de *Compost Barn*. Albino *et al.* (2017) verificaram concentrações baixas (1 a 95.575 UFC/mL) de CBT do leite em sistema *Compost Barn*, sendo o agente mais comum o *Streptococcus* spp., o mesmo verificado na extremidade do teto, possivelmente em função da presença deste patógeno na cama, devido a correlação positiva entre a CBT do teto e o escore de células somáticas.

Pode-se destacar a variação na frequência relativa do *Staphylococcus aureus*, que reduziu em 3,77%, passando a ser inexistente com a aplicação do probiótico, embora este resultado não esteja ligado ao efeito do produto. O *Staphylococcus aureus* é considerado como um dos patógenos mais frequentes em casos de infecções intra-mamárias de vacas leiteiras. Este microrganismo possui alto potencial de desenvolvimento de resistência aos mais diversos agentes antimicrobianos sintéticos, razão esta pela qual os animais acometidos possuem baixa chance de cura, além de ser altamente contagioso, estando relacionado à ocorrência de mastite subclínica (FOGAÇA, 2021).

Outros patógenos ambientais, como o *Streptococcus uberis e dysgalactiae*, também apresentaram moderada redução após o tratamento com o probiótico nas camas de compostagem (Gráfico 1). Neste contexto, a possível ação do probiótico poderia ser por meio da exclusão competitiva, que possibilitaria reduzir as cargas de microrganismos patogênicos através da adição de microrganismos naturais (leveduras e bactérias ácido-láticas) ao composto. Além disso, a adição destes microrganismos permitiria a rápida decomposição da matéria orgânica, gerando calor suficiente para reduzir a umidade do material da cama. Estas condições resultam em um ambiente com menores chances para a proliferação de patógenos, bem como garantem a menor aderência das partículas da cama no corpo dos animais, reduzindo as chances de contaminação microbiana (BLACK *et al.* 2013).

4. CONCLUSÃO

O uso de probiótico a base de *Lactobacillus* e leveduras utilizado na cama de compostagem de vacas leiteiras não tem efeito sobre a composição do leite de vacas mantidas em sistema *Free Stall* e *Compost Barn* e nem na CCS e no perfil microbiológico do leite. Alguns fatores podem ter limitado a ação do probiótico sobre a cama, tais como a transição das vacas na área tratada e não tratada com o probiótico, o manejo de aeração, as baixas

temperaturas, a ocorrência de chuvas e o curto período de tempo para a realização do experimento.

Diante dos resultados, verifica-se a necessidade de mais investigações sobre as variáveis que possam influenciar na atividade biológica da cama e no processo de decomposição. Devem-se estudar mais alternativas para acelerar a decomposição da matéria orgânica e promover o equilíbrio dos microrganismos na cama de compostagem de vacas leiteiras, visando tornar o sistema mais eficiente em manter vacas sadias e com melhor desempenho produtivo, melhorando os parâmetros de composição e qualidade do leite.

5. REFERÊNCIAS

- ALBINO, R. L. *et al.* Comparison of bacterial populations in bedding material, on teat ends, and in milk of cows housed in compost bedded pack barns. **Animal Production Science**, v. 58, n. 9, p. 1686, 2017.
- BARBERG, A. E. *et al.* Performance and welfare of dairy cows in an alternative housing system in Minnesota. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 3, p. 1575–1583, 2007.
- BEAVER, A.; RITTER, C.; KEYSERLINGK, M. A. G. VON. The Dairy Cattle Housing Dilemma: Natural Behavior Versus Animal Care. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v. 35, n. 1, p. 11-27, 2019.
- BEWLEY, J. M. *et al.* Compost bedded pack barn design features and management considerations. **Cooperative Extension Service**, University of Kentucky College of Agriculture, Lexington KY, 150 p. 2012.
- BEWLEY, J. M.; ROBERTSON, L. M.; ECKELKAMP, E. A. A 100-Year Review: Lactating dairy cattle housing management. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 10418-10431, 2017.
- BLACK, R. A. *et al.* Compost bedded pack dairy barn management, performance, and producer satisfaction. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 12, p. 8060–8074, 2013.
- BOGNOLA, I. A. *et al.* Caracterização dos Solos do Município de Carambeí, PR. Embrapa Solos. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, n. 8, p. 75, 2002.
- CALDATO, E. M. R. **Manual técnico de construção e manejo de *compost barn* para vacas leiteiras**. 2019. 41 f. Dissertação de Mestrado (Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa/MG, 2019.
- CECCHIN, D. **Comportamento de vacas leiteiras confinadas em *free-stall* com camas de areia e borracha**. 2012. Dissertação (Pós-Graduação em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.
- CNA. **Confederação da Agricultura e Pecuária no Brasil**. Pesquisa Pecuária Municipal 2020. Edição 30/2021. Disponível em: <https://cnabrasil.org.br/storage/arquivos/Comunicado-Tecnico-CNA-ed-30_2021.pdf>. Acesso: 06/04/2023.
- COTTA, J. A. de O. *et al.* Compostagem versus vermicompostagem: comparação das técnicas utilizando resíduos vegetais, esterco bovino e serragem. **Eng. Sanit. Ambient.**, v. 20, n. 1, p. 65-78, jan/mar 2015.
- DAMASCENO, F. A. ***Compost barn* como uma alternativa para a pecuária leiteira**. 1. ed. Gulliver, 2020, 797 p.
- DAMASCENO, F. A. *et al.* Estimate of manure present in compost dairy barn systems for sizing of manure storage. **Agronomy Research**, v. 18, n. 2, p. 1213–1219, 2020.

FÁVERO, S. *et al.* Factors associated with mastitis epidemiologic indexes, animal hygiene, and bulk milk bacterial concentrations in dairy herds housed on compost bedding. **Livestock Science**, v. 181, p. 220–230, 2015.

FERREIRA, B. H. A.; RIBEIRO, L. F. Mastites causadas por *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. e *Streptococcus uberis* relacionadas ao sistema de produção *Compost Barn* e o impacto na qualidade do leite. **Revista GeTec**, v. 11, n. 35, p. 1–18, 2022.

FOGAÇA, C. S. S. **Contaminação microbiológica dos tetos de vacas leiteiras mantidas em sistema de confinamento *Compost Barn***. 2021. 48 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de São Carlos, Buri, 2021.

GALAMA, P. J. *et al.* *Symposium review: Future of housing for dairy cattle*. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 6, p. 5759-5772, 2020.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Pesquisa da Pecuária Municipal. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/leite/br>>. Acesso em: 06/04/2023.

JANNI, K. A.; ENDRES, M. I.; RENEAU, J. K.; SCHOPER, W. Compost dairy barn layout and management recommendations. **Applied Engineering in Agriculture**, v. 23, n. 1, p. 97–102, 2007.

KAPPES, R. *et al.* Cow's functional traits and physiological status and their relation with milk yield and milk quality in a compost bedded pack barn system. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 49, p. 1–13, 2020.

LESO, L. *et al.* Invited review: Compost-bedded pack barns for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 2, p. 1072–1099, 2020.

MACHADO, P. F. M.; PEREIRA, A. R.; SARRIES, G. A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 2765-3768, 2000.

MARTINS, A. K. F. **Conforto térmico e o *Compos Barn* como alternativa para criação de vacas leiteiras: revisão**. 2021. 48 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2021.

MARTELLO, L. S. **Interação animal-ambiente: efeito do ambiente climático sobre as respostas fisiológicas e produtivas de vacas Holandesas em *free stall***. 2006. 111 f. Tese de Doutorado (Zootecnia) – Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.

MEINL, A. M. O impacto do uso da tecnologia no desempenho da produção leiteira: manejo tradicional, *compost barn* e *free stall*. **Revista Ambiente Contábil**, v. 14, n. 1, p. 152-173, 2022.

MOTA, V. C.; DE ANDRADE, E. T.; LEITE, D. F. Caracterização da variabilidade espacial dos índices de conforto animal em sistemas de confinamento *Compost Barn*. **Portal Pubvet**, v. 13, n. 2, p. 1-14, 2019.

- NOGARA, K. F. **Caracterização da qualidade e composição do leite em sistemas *compost barn* na região dos campos gerais do estado do Paraná.** 2022. Dissertação de Pós Graduação (Zootecnia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2022.
- OLIVEIRA, E. C. A.; SARTORI, R. H.; GARCEZ, T. B. **Compostagem.** Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.
- OLIVEIRA, C. E. A. *et al.* Assessment of spatial variability of bedding variables in compost bedded pack barns with climate control system. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, n. 3, p. 1–14, 2021.
- PILATTI, J. A. (2017). **O comportamento diurno e o bem-estar de vacas em sistema de confinamento *compost barn*.** (Dissertação de Mestrado) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos/PR, 2017.
- ROCHA, D. T. da; CARVALHO, G. R.; RESENDE, J. C. de. **Cadeia produtiva do leite no Brasil: produção primária.** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2020, 15 p.
- ROSA, D. C. *et al.* Qualidade do leite em amostras individuais e de tanque de vacas leiteiras. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.79, n.4, p. 485-493, out./dez., 2012.
- ROTTA, P. P.; MARCONDES, M. I.; PEREIRA, B. DE M. **Nutrição e Manejo de Vacas Leiteiras.** 1. ed. Viçosa: UFV, 2019, 236 p.
- SAWATZKY, R. **Bovinos leiteiros em sistema de confinamento *compost bedded pack barn*.** 2015. Relatório (Estágio curricular) – Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba, 2015.
- SHANE, E.M.; ENDRES, M. I.; JOHNSON, D.G.; RENEAU, J.K. Bedding options for an alternative housing system for dairy cows: A descriptive study. **Applied Engineering in Agriculture**, v. 26, n.4, p. 659-666, 2010.
- SILVA, C. F. S. de. **Influência do sistema de *Compost Barn* sobre a produtividade, qualidade do leite e índices reprodutivos.** 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Zootecnia). Universidade Federal de São João Del Rei, São João Del Rei, 2018.
- SOARES, A. A. **Variabilidade espacial do microclima em sistema *compost barn*: influência na qualidade da cama, termorregulação e comportamento de vacas leiteiras.** 2019. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2019.
- TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite.** 4. ed. Santa Maria: UFSM, 2010, 195 p.
- TSUKAHARA, R. Y. *et al.* **Análise climática da região de Campos Gerais, PR.** Santa Maria: XIII Congresso Brasileiro de Agrometeorologia, 2003. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/301700238_ANALISE_CLIMATICA_DA_REGI_AO_DE_CAMPOS_GERAIS_PR>. Acesso: 06/04/2023.