

REVISTA PORTUGUESA DE ZOOTECNIA

Volume 2(1)/2026

Edição
Especial

XXV ZOOTECH – 25º
Congresso Nacional
de Zootecnia



ISSN: 2182-4975

REVISTA PORTUGUESA DE ZOOTECNIA

FICHA TÉCNICA

DIRECTOR

Joaquim Lima Cerqueira

EDITOR-CHEFE

Joaquim Lima Cerqueira

COMPOSIÇÃO E MONTAGEM

Sara Garcia
Telma G. Pinto

DESIGN GRÁFICO

Sara Garcia

PROPRIEDADE

APEZ - Associação
Portuguesa de
Engenharia Zootécnica

CONTACTOS

Apartado 60,
5001-909 Vila Real, Portugal

geral@apez.pt

T: +351 912 239 527

CO-EDITORES

Flávio Silva

*Engenheiro Zootécnico
pela Universidade de
Évora, Doutor em Ciência
Animal pela UTAD*

Sara Garcia

*Engenheira Zootécnica
pela Universidade de
Évora, focada em
Nutrição de Ruminantes*



REVISTA PORTUGUESA DE ZOOTECNIA

COMISSÃO CIENTÍFICA

Alfredo Borba
Alfredo Pereira
Ana Geraldo
Ana Sofia Santos
André Almeida
Ângela Martins
António Marcos Ramos
António Moutinho Rodrigues
António Vicente
Carlos Vouzela
Catarina Ginja
Cristiana Cazapal Monteiro
Cristiana Maduro Dias
Cristina Conceição
Divanildo Monteiro
Fernando Marques
Hélder Nunes
Henrique Duarte Rosa
Joaquim Lima Cerqueira
Joaquim Moreira da Silva
Jorge Azevedo
Jorge Oliveira
José Carlos Almeida
Jose Hernández Malagón
José Júlio Martins
José Pedro Araújo

Luís Mendes Ferreira
Luís Patarata
Madalena Lordelo
Manuela Guerra
Margarida Maia
Maria Amélia Ramos
Maria João Fradinho
Maria José Gomes
Maria José Saavedra
Maria Lurdes Dapkevicius
Mariana Almeida
Mercedes Camiña García
Miguel Elias
Miguel Rodrigues
Nuno Carolino

Olga Moreira
Paulo Rema
Paulo Russo de Almeida
Rita Payan
Rosário Marques
Rui Bessa
Rui Charneca
Severiano Silva
Sofia Teixeira
Susana Alves
Teresa Matos
Victor Pinheiro
Virgínia Santos



A publicação deste número foi possível graças
ao apoio da Comissão Científica do XXV ZOOTECH
- 25º Congresso Nacional de Zootecnia

Índice

3

FICHA TÉCNICA

5

EDITORIAL

13

REALIZAÇÃO DO TESTE CALIFORNIANO DE MASTITES E AVALIAÇÃO DE HIPERQUERATOSE EM EXPLORAÇÕES DE VACAS LEITEIRAS DE BARCELOS

40

SELEÇÃO DARWINIANA E A MONITORIZAÇÃO DA INFESTAÇÃO POR VARROA DESTRUCTOR EM *APIS MELLIFERA IBERIENSIS*

70

COLLARES GPS EN LA VIGILANCIA DE VECTORES TRANSMISORES DE ENFERMEDADES: OTRA FUNCIÓN PREVENTIVA COM IA

89

QUALIDADE DE ÁGUA EM EXPLORAÇÃO DE BOVINOS DE LEITE: IMPACTO NA PRODUÇÃO, REPRODUÇÃO E SAÚDE DOS ANIMAIS

4

COMISSÃO CIENTÍFICA

6

INCIDENCE AND QUANTIFICATION OF *CAMPYLOBACTER* SPP. IN POULTRY FARMS

23

FOOD SAFETY ASSESSMENT OF FRANCOLIN (*PTERNISTIS BICALCARATUS*) IN SOUTHERN BENIN: PHYSICO-CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERIZATION

47

POTENCIALIDADES DA AGRICULTURA DE PRECISÃO PARA A IDENTIFICAÇÃO E CONTROLO DA FLORA TÓXICA E AGRESSIVA EM PASTAGENS NO MONTADO

81

INOCUIDADE AMBIENTAL DE HONGOS PARASITICIDAS EMPLEADOS EN LA PREVENCIÓN DE INFECCIONES PARASITARIAS



EDITORIAL

A Associação Portuguesa de Engenharia Zootécnica tem realizado um esforço meritório, conseguindo proporcionar ao longo dos últimos anos um congresso anual da especialidade, com a possibilidade de participação de docentes, alunos e técnicos afetos às áreas da ciência animal e da zootecnia. Paralelamente tem-se sentido o apoio e entusiasmo de instituições e empresas ligadas ao setor, que através do seu apoio financeiro, logístico e técnico numa parceria útil e desejável, permitem consolidar e partilhar mais ciência e conhecimento, num espírito de entreatajuda para todos os interlocutores da zootecnia.

Uma das atividades da APEZ consiste na publicação e difusão de conteúdos científicos e técnicos sobre as mais variadas áreas da produção animal, numa perspetiva multidisciplinar. Com este objetivo, publica-se mais um número da RPZ, sabendo que esta revista está orientada para fortalecer as sinergias entre a investigação, a aplicação e o desenvolvimento tecnológico no âmbito da ciência animal, sendo em Portugal, uma das principais entidades representantes desta área do conhecimento e de atuação profissional.

A RPZ aceita para publicação artigos científicos originais, resultantes da investigação e desenvolvimento tecnológico no âmbito da fisiologia, reprodução, nutrição, melhoramento genético, gestão das explorações, tecnologia alimentar, higiene e sanidade e do bem-estar animal, em todas as espécies animais.

Os artigos publicados são objeto de revisão por pares, recaindo sobre especialistas de reconhecido mérito académico, nas mais diversas áreas de especialidade da zootecnia, cabendo a aceitação final ao Conselho Editorial.

Os artigos desta edição resultam de trabalhos submetidos ao XXV Congresso Nacional de Zootecnia, realizado no Instituto Superior de Agronomia, em Lisboa, nos dias 23 a 25 de outubro de 2025. Este evento contou com a presença de 217 congressistas, tendo sido aceites 137 trabalhos científicos, dos quais 33 foram apresentados sob a forma de comunicação oral, e 104 em formato poster, em 8 sessões temáticas da especialidade, incluindo várias mesas redondas com fóruns de discussão alargada, tendo o último dia recaído exclusivamente sobre a realização de duas visitas técnicas de elevado interesse técnico-profissional com saudável troca de experiências entre os participantes.

Pela divulgação da Zootecnia.

JOAQUIM LIMA CERQUEIRA



Pela
divulgação da
Zootecnia.

Incidence and Quantification of *Campylobacter* spp. in Poultry Farms

Ana Rita Barata^{1, 2, 3},
Maria José Saavedra^{* 2, 3},
Gonçalo Almeida^{** 1, 4}

¹ National Institute of Agricultural and Veterinary Research, INIAV, 4485-655 Vairão, Vila do Conde, Portugal;

² Centre for the Research and Technology of Agroenvironmental and Biological Sciences, CITAB, Inov4Agro, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, 5000-801 Vila Real, Portugal;

³ Center for Veterinary and Animal Research, CECAV, AL4Animals, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, 5000-801 Vila Real, Portugal;

⁴ Center for Animal Science Studies - Institute of Agricultural and Agro-Food Sciences and Technologies (CECA-ICETA), University of Porto, 4050-453 Porto, Portugal

* Autor correspondente: saavedra@utad.pt

** Autor correspondente: congalo.almeida@iniav.pt

ABSTRACT

Campylobacter spp., especially *C. jejuni* and *C. coli*, are recognized as leading bacterial causes of human gastroenteritis and are frequently linked to the consumption of contaminated poultry products. Laying and breeding hens can serve as asymptomatic reservoirs of these microorganisms, facilitating their spread within the production environment. Although eggs are less often implicated in direct transmission, they may contribute to cross-contamination during handling, storage, and processing.

This study aimed to determine the incidence and contamination load of *Campylobacter* spp. in Portuguese laying and breeding hen farms, using culture-based and molecular techniques as complementary detection tools. Thirty-nine faecal samples were collected from 21 poultry farms and analyzed following the ISO 10272-1 protocol and real-time PCR. Thirty-six samples (92.3%) tested positive for *Campylobacter*, yielding 63 isolates (32 *C. jejuni* and 31 *C. coli*). The bacterial load ranged from 2.0×10^2 to 1.3×10^6 CFU/g. PCR showed greater sensitivity, detecting positives in samples with no visible growth on selective media.

The results confirm a high prevalence of *Campylobacter* spp. in poultry flocks, even in the absence of clinical signs, emphasizing the relevance of integrated detection methods and biosecurity measures. The combined use of culture and PCR proved effective for pathogen monitoring, supporting the implementation of regular surveillance programs in the poultry sector.

KEYWORDS

zoonotic bacteria, food safety, molecular detection, faecal contamination, avian microbiology, poultry farms

INTRODUCTION

Campylobacter spp. are among the leading bacterial pathogens responsible for human gastroenteritis worldwide, with *C. jejuni* and *C. coli* representing the predominant species involved in zoonotic transmission (Kaakoush et al., 2015). These microorganisms are thermophilic, microaerophilic bacteria that colonize the intestinal tract of a wide range of warm-blooded animals, particularly poultry (Zainol et al., 2024). In chickens, colonization typically occurs asymptotically, allowing birds to act as persistent reservoirs and major amplifiers of environmental contamination (Hughes et al., 2009). Through faecal shedding, *Campylobacter* readily disseminates within flocks and across the farm environment, contaminating litter, water, equipment, and personnel (Facciola et al., 2017).

Transmission to humans is mainly associated with the handling and consumption of contaminated poultry meat, which remains the principal vehicle for infection (Shaji et al., 2023). Even though rigorous biosecurity and hygiene measures have been implemented across the European poultry sector, *Campylobacter* continues to represent the most frequently reported bacterial foodborne pathogen in the European Union, accounting for a substantial proportion of confirmed gastroenteritis cases each year (Horvat et al., 2022). This persistence highlights the complex epidemiology of the organism, its ability to survive under diverse environmental conditions, and the difficulty of eradicating it from poultry production systems.

Given the public-health relevance of *Campylobacter* and its economic impact on the poultry industry, continuous surveillance and quantification of contamination levels at the farm stage are critical (Gölz et al., 2014). Monitoring the prevalence and bacterial load of *Campylobacter* spp. within laying and breeding flocks provides key information for evaluating the effectiveness of biosecurity practices and designing intervention strategies to limit the risk of transmission along the production chain (Newell et al., 2011).

Beyond its public health implications, *Campylobacter* also represents a significant economic and regulatory concern for the poultry industry. According to the European Food Safety Authority (EFSA), *Campylobacter* is consistently the most frequently reported zoonotic pathogen in the European Union, accounting for over 120,000 confirmed human cases annually, with a considerable underestimation due to underreporting. The economic burden associated with campylobacteriosis, including medical expenses, productivity losses, and food-chain interventions, has been estimated to exceed 2 billion euros per year in the EU (EFSA, 2024). In response, the European Commission has established process hygiene criteria for *Campylobacter* in broiler carcasses (Regulation (EU) 2017/1495, 2017) and set progressive reduction targets to limit contamination levels at slaughter. These measures emphasize the need for continuous surveillance and preventive control at the primary production stage, where effective biosecurity practices can significantly reduce bacterial load before processing. Within this framework, farm-level data such as those presented in this study are crucial for supporting compliance with EU food safety objectives and optimizing intervention strategies along the poultry supply chain.

The present study aimed to determine the incidence and contamination load of *Campylobacter* spp. in faecal samples from Portuguese laying and breeding hen farms, using both culture-based and molecular detection methods as complementary analytical tools.

MATERIAL AND METHODS

A total of thirty-nine faecal samples were collected from twenty-one commercial laying and breeding hen farms located in different regions of Portugal. Sampling was carried out during routine sanitary inspections. Thirty-two stool samples and seven boot sock samples were collected, placed in sterile containers, and immediately stored under refrigerated conditions (4 °C) until laboratory processing within 24 hours.

The isolation and enumeration of *Campylobacter* spp. were performed in accordance with ISO 10272-1:2017 guidelines. Briefly, 10 g of each sample was homogenized in 90 ml of buffer peptone water (BPW). Next, 10 ml of the homogenised mixture was inoculated into 90 ml selective enrichment broth, Bolton broth, and incubated under microaerophilic conditions (5 % O₂, 10 % CO₂, 85 % N₂) at 41.5 °C for 48 hours. Of the 90 ml of BPW, aliquots were streaked onto modified Charcoal-Cefoperazone-Deoxycholate agar (mCCDA) plates and incubated under the same atmospheric conditions. Presumptive colonies were enumerated as colony-forming units per gram (CFU/g) and subsequently confirmed by molecular profiling, using real-time PCR.

For molecular detection, DNA was extracted from enrichment broth and bacterial isolates using a standard thermal lysis protocol. An in-house real-time PCR assay was conducted for genus- and species-level identification, targeting the 16S rRNA gene for *Campylobacter* genus, *hipO* gene for *C. jejuni*, the *glyA* gene for *C. coli*, and *bipA* gene for *C. lari*. Amplification reactions were performed using specific primers and probes, with cycling conditions optimized for high sensitivity. The PCR approach was employed as a complementary diagnostic tool to detect *Campylobacter* DNA in samples that yielded negative culture results, thereby improving overall detection accuracy.

Quantitative data, including prevalence and bacterial load, were analysed descriptively using percentage distribution and logarithmic transformation of CFU values. Ethical approval was not required for this study, as it involved only the collection of environmental faecal samples and did not include any animal experimentation procedures.

RESULTS

Out of the thirty-nine faecal samples analysed, thirty-six (92.3%) tested positive for *Campylobacter* spp. through either culture or PCR. Culture methods yielded sixty-three isolates, comprising thirty-two *C. jejuni* and thirty-one *C. coli* (Table 1).

The mean contamination load across positive samples was $4.7 \pm 0.9 \log_{10}$ CFU/g, ranging from 2.0×10^2 to 1.3×10^6 CFU/g (Figure 1).

No significant differences in bacterial load were observed between laying and breeding farms.

PCR analysis confirmed all culture-positive samples and additionally detected positive results in three culture-negative samples, demonstrating a higher analytical sensitivity compared to conventional methods.

DISCUSSION

The high prevalence of *Campylobacter* spp. observed in this study (92.3%) confirms that laying and breeding hens constitute an important reservoir for this pathogen within the poultry production chain. This finding is consistent with reports from other European countries, where asymptomatic carriage in poultry flocks remains a major challenge for food safety management (Al Hakeem et al., 2022; Dermatas et al., 2023). Although birds generally show no clinical manifestations, their persistent intestinal colonization results in continuous faecal shedding, leading to environmental contamination and facilitating pathogen dissemination through equipment, litter, and personnel (Eriksson et al., 2023).

The nearly equal distribution of *C. jejuni* and *C. coli* detected among isolates suggests the coexistence of both species within the same ecological niches (Sheppard & Maiden, 2015). Balanced prevalence highlights their adaptive flexibility to the avian gastrointestinal environment and their ability to persist under farm conditions. This co-circulation pattern mirrors the epidemiological scenario reported across European poultry systems, where *C. jejuni* often predominates in broilers while *C. coli* remains common in layers and breeding flocks (El-Saadony et al., 2023).

The wide range of contamination loads detected—from 2.0×10^2 to 1.3×10^6 CFU/g, with an average of $4.7 \pm 0.9 \log_{10}$ CFU/g—demonstrates the heterogeneous nature of faecal shedding among birds. This variability may reflect differences in animal age, flock density, feed composition, and hygiene management, all of which are known to influence *Campylobacter* colonization dynamics (Sibanda et al., 2018). The predominance of samples within the intermediate contamination range (3.3 – $5.3 \log_{10}$ CFU/g) indicates a moderate to high bacterial burden compatible with subclinical infection.

The combined use of culture and real-time PCR proved highly effective for pathogen detection. PCR confirmed all culture-positive cases and additionally identified *Campylobacter* DNA in culture-negative samples, demonstrating the enhanced sensitivity of molecular methods for detecting viable but non-culturable cells. These results underscore the importance of adopting complementary diagnostic approaches to obtain a more accurate assessment of the microbiological status of poultry farms.

From a broader perspective, the persistence of *Campylobacter* within poultry systems continues to pose regulatory and economic challenges. Despite the implementation of European hygiene criteria and reduction targets, contamination at the primary production level remains a critical control point. Continuous surveillance programs supported by molecular tools can therefore play a central role in verifying compliance with European Union food safety standards and reducing the pathogen's burden along the production chain.

The current study provides valuable baseline data for Portuguese poultry farms, but certain limitations should be acknowledged. The absence of longitudinal sampling and molecular typing restricted the ability to trace infection sources and evaluate the persistence of specific strains over time. Future research integrating genotyping, environmental monitoring, and assessment of biosecurity interventions will be essential to elucidate *Campylobacter* transmission routes and identify effective mitigation strategies.

Overall, these findings highlight the urgent need for a comprehensive, farm-to-fork approach combining preventive hygiene, continuous monitoring, and molecular surveillance to effectively control *Campylobacter* in the poultry sector.

CONCLUSION

This study demonstrates a high prevalence of *Campylobacter* in Portuguese hen farms, confirming that poultry flocks act as major reservoirs for this zoonotic pathogen even in the absence of clinical disease. The detection of *Campylobacter* in nearly equal proportions reveals the ecological adaptability and persistence of these species within farm environments.

The integration of conventional culture and real-time PCR proved to be an effective strategy for the detection and quantification of *Campylobacter*. This dual methodological approach for monitoring programs aimed to improving food safety and animal health. These findings underscore the urgent need to reinforce farm-level biosecurity, implement systematic surveillance, and adopt evidence-based control measures to minimize faecal contamination and reduce the pathogen load entering the food chain. Future work should focus on longitudinal monitoring to better understand transmission dynamics, evaluate the effectiveness of intervention strategies, and support compliance with European Union reduction targets for *Campylobacter* contamination in poultry production.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors acknowledge the National Funds by FCT through the projects UID/04033/2025 (CITAB), LA/P/0126/2020, and UIDB/00211/2020 (Center for Animal Science Studies, CECA-ICETA, AL4AnimalS, University of Porto). Financial support for author Ana Rita Barata was provided by FCT through a doctoral fellowship (2023.04257.BDANA).

FUNDING

This research received no specific grant other than the doctoral fellowship mentioned above. Institutional funding was provided by FCT through the referenced projects.

REFERENCES

- Al Hakeem, W. G., Fathima, S., Shanmugasundaram, R., & Selvaraj, R. K. (2022). *Campylobacter jejuni* in Poultry: Pathogenesis and Control Strategies. *Microorganisms*, 10(11), 2134. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112134>
- Commission Regulation (EU) 2017/1495 of 23 August 2017 amending Regulation (EC) No 2073/2005 as regards *Campylobacter* in broiler carcasses
- Dermatas, A., Rozos, G., Voidarou, C. (Chrysa), Akrida-Demertzi, K., & Demertzis, P. (2023). Biodiversity Dynamics of *Campylobacter* Species in Chicken Tissues in Rural Households in Region Epirus, Greece. *Applied Sciences*, 13(10), 6073. <https://doi.org/10.3390/app13106073>
- EFSA. (2024). The European Union One Health 2023 Zoonoses report. *EFSA Journal*, 22(12). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.9106>
- El-Saadony, M. T., Saad, A. M., Yang, T., Salem, H. M., Korma, S. A., Ahmed, A. E., Mosa, W. F. A., Abd El-Mageed, T. A., Selim, S., Al Jaouni, S. K., Zaghloul, R. A., Abd El-Hack, M. E., El-Tarabily, K. A., & Ibrahim, S. A. (2023). Avian campylobacteriosis, prevalence, sources, hazards, antibiotic resistance, poultry meat contamination, and control measures: a comprehensive review. *Poultry Science*, 102(9), 102786. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102786>
- Eriksson, D., Råhlén, E., Bergenkvist, E., Skarin, M., Fernström, L.-L., Rydén, J., & Hansson, I. (2023). Survival of *Campylobacter jejuni* in frozen chicken meat and risks associated with handling contaminated chicken in the kitchen. *Food Control*, 145, 109471. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109471>
- Facciola, A., Riso, R., Avventuroso, E., Visalli, G., Delia, S. A., & Laganà, P. (2017). *Campylobacter*: from microbiology to prevention. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*, 58(2), E79–E92.
- Gölz, G., Rosner, B., Hofreuter, D., Josenhans, C., Kreienbrock, L., Löwenstein, A., Schielke, A., Stark, K., Suerbaum, S., Wieler, L. H., & Alter, T. (2014). Relevance of *Campylobacter* to public health—The need for a One Health approach. *International Journal of Medical Microbiology*, 304(7), 817–823. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2014.08.015>
- Horvat, A., Luning, P. A., DiGennaro, C., Rommens, E., van Daalen, E., Koene, M., & Jalali, M. S. (2022). The impacts of biosecurity measures on *Campylobacter* contamination in broiler houses and slaughterhouses in the Netherlands: A simulation modelling approach. *Food Control*, 141, 109151. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109151>
- Hughes, L. A., Bennett, M., Coffey, P., Elliott, J., Jones, T. R., Jones, R. C., Lahuerta-Marin, A., Leatherbarrow, A. H., McNiffe, K., Norman, D., Williams, N. J., & Chantrey, J. (2009). Molecular Epidemiology and Characterization of *Campylobacter* spp. Isolated from Wild Bird Populations in Northern England. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(10), 3007–3015. <https://doi.org/10.1128/AEM.02458-08>
- Kaakoush, N. O., Castaño-Rodríguez, N., Mitchell, H. M., & Man, S. M. (2015). Global Epidemiology of *Campylobacter* Infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 687–720. <https://doi.org/10.1128/CMR.00006-15>

Newell, D. G., Elvers, K. T., Dopfer, D., Hansson, I., Jones, P., James, S., Gittins, J., Stern, N. J., Davies, R., Connerton, I., Pearson, D., Salvat, G., & Allen, V. M. (2011). Biosecurity-Based Interventions and Strategies To Reduce *Campylobacter* spp. on Poultry Farms. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(24), 8605–8614. <https://doi.org/10.1128/AEM.01090-10>

Shaji, S., Selvaraj, R. K., & Shanmugasundaram, R. (2023). *Salmonella* Infection in Poultry: A Review on the Pathogen and Control Strategies. *Microorganisms*, 11(11), 2814. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11112814>

Sheppard, S. K., & Maiden, M. C. J. (2015). The Evolution of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(8), a018119. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018119>

Sibanda, N., McKenna, A., Richmond, A., Ricke, S. C., Callaway, T., Stratakis, A. Ch., Gundogdu, O., & Corcionivoschi, N. (2018). A Review of the Effect of Management Practices on *Campylobacter* Prevalence in Poultry Farms. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02002>

Zainol, M. F. A., Safiyanu, M. B., Aziz, S. A., Omar, A. R., Chuang, K. P., & Mariatulqabtiah, A. R. (2024). *Campylobacteriosis* and Control Strategies against *Campylobacters* in Poultry Farms. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34(5), 987–993. <https://doi.org/10.4014/jmb.2311.11045>

TABELAS E FIGURAS

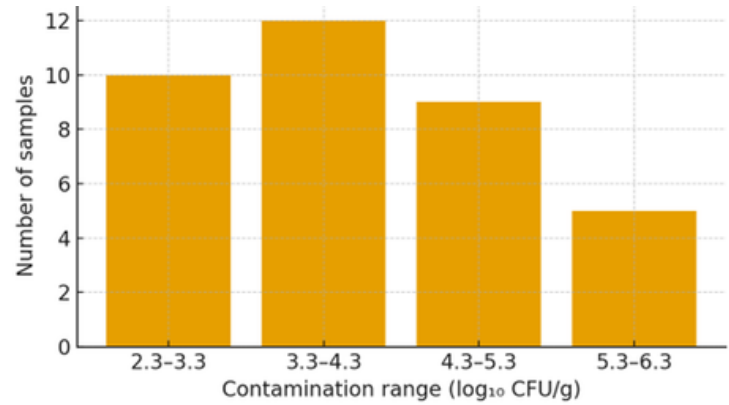


Figure 1 – Distribution of *Campylobacter* contamination loads (log₁₀ CFU/g) in positive faecal samples (n=36)

Table 1 – Prevalence of *Campylobacter* spp. isolates

<i>Campylobacter</i> species	Number of isolates	Percentage (%)
<i>C. jejuni</i>	32	50.8
<i>C. coli</i>	31	49.2

Realização do Teste Californiano de Mastites e Avaliação de Hiperqueratose em Explorações de Vacas Leiteiras de Barcelos

Ana S. Lagoa^{*1},
Adelaide R. Pereira²,
José Pedro Araújo^{1,3,4},
Joaquim Lima Cerqueira^{1,3,5}

1 Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios do Lima, 4990-706 Ponte de Lima, Portugal;

2 Laboratório de Sanidade Animal e Segurança Alimentar (SEGALAB), Rua Cidade da Póvoa de Varzim, N.º55, 4490-295 Argivai, Póvoa de Varzim;

3 Centro de Investigação e Desenvolvimento em Sistemas Agro-alimentares e Sustentabilidade (CISAS), IPVC, Viana do Castelo, Portugal;

4 Centro de Investigação de Montanha (CIMO) ESA - IP Viana do Castelo, Portugal

5 Centro de Investigação em Ciência Animal e Veterinária e Laboratório Associado para Ciência Animal e Veterinária (AL4AnimalS), Vila Real, Portugal.

**Autor correspondente: analagoa@ipvc.pt*

RESUMO

A hiperqueratose do teto é considerada um indicador importante de bem-estar animal, influenciada por fatores relacionados com a ordenha e com parâmetros morfo-fisiológicos da vaca. Deve ter-se em consideração a incidência de patologias provocadas por um maneio inadequado durante o processo de ordenha. Assim a hiperqueratose deve ser considerada como uma preocupação de bem-estar, de forma a permitir que os produtores evitem situações de desconforto, de dor, incluindo problemas relacionados com a saúde do úbere. O objetivo deste trabalho consistiu na avaliação dos níveis de hiperqueratose dos tetos em efetivos de vacas leiteiras. Visitaram-se dez explorações de bovinos leiteiros para realização de provas de estábulo, entre março e abril de 2025, tendo-se efetuado o TCM (Teste Californiano de Mastites) a cada vaca de acordo com a metodologia adaptada de Ruegg e Reinemann (2002) e de seguida avaliou-se o grau de hiperqueratose na escala sugerida por Mein et al. (2001), em quatro graus distintos N (sem anel), S (anel ligeiro), R (anel rugoso) e VR (anel extremamente rugoso). Informatizaram-se os dados e realizou-se a estatística descritiva através do Microsoft Excel. O número global de lactações por vaca foi de $2,4 \pm 1,4$, com valores médios de $187,8 \pm 125,4$ dias em leite e 459.200 cél./ml. Constatou-se que a maioria das vacas monitorizadas (>85%) resultaram em TCM de grau 0 (negativo), ou seja, sem infeção aparente da glândula mamária. Para o grau 1 (fraco positivo) de TCM a frequência oscilou entre 5 a 9%, com maior incidência nos quartos posteriores do úbere. Para os graus mais graves de TCM (2 (positivo) e 3 (forte positivo)) registaram-se entre 3,2% a 6% nos quartos anteriores e posteriores respetivamente. Observaram-se níveis elevados de hiperqueratose, com mais de 87% dos tetos classificados em categorias positivas (S, R e VR). A categoria S foi a mais representativa em todos os quartos, variando entre 46,8% no anterior esquerdo (AE) e 48,0% no posterior direito (PD). A classificação R também apresentou valores expressivos, entre 27,8% no anterior direito (AD) e 29,9% no posterior esquerdo (PE). Os valores de VR, grau de hiperqueratose mais grave, oscilaram entre 9,9% (PD) e 12,5% (AD e AE), tendo os tetos anteriores evidenciado maior frequência nesta categoria. Ao efetuar a análise da hiperqueratose por exploração constatou-se elevada prevalência em todos os efetivos, que se cifrou entre 63,2% (expl. 9) e 97,4% (expl. 5).

PALAVRAS-CHAVE

Vacas leiteiras, bem-estar animal, TCM, hiperqueratose do teto

ABSTRACT

Teat-end hyperkeratosis is considered an important indicator of animal welfare, influenced by milking-related factors and by the cow's morphophysiological characteristics. The incidence of pathologies resulting from inadequate milking management should be taken into account. Therefore, hyperkeratosis should be regarded as a welfare concern, enabling producers to prevent situations of discomfort, pain, and udder health problems. The objective of this study was to evaluate teat-end hyperkeratosis levels in dairy cattle herds. Ten dairy farms were visited between March and April 2025 to perform barn tests. The California Mastitis Test (CMT) was carried out on each cow according to the methodology adapted from Ruegg and Reinemann (2002), followed by the assessment of teat hyperkeratosis according to the scale proposed by Mein et al. (2001), which includes four different grades: N (no ring), S (slight ring), R (rough ring), and VR (very rough ring). The data were computerized and descriptive statistics were performed using Microsoft Excel. The overall number of lactations per cow was 2.4 ± 1.4 , with mean values of 187.8 ± 125.4 days in milk and 459,200 cells/ml. The number of lactations is similar to that reported for dairy herds under milk recording in Portugal (ANABLE, 2024). It was observed that the majority of monitored cows (>85%) had a CMT score of 0 (negative), indicating no apparent mammary gland infection. For CMT grade 1 (weak positive), the frequency ranged between 5 and 9%, with higher incidence in the rear quarters of the udder. For the more severe CMT grades (2 – positive and 3 – strong positive), values between 3.2% and 6% were recorded in the front and rear quarters, respectively. High levels of hyperkeratosis were observed, with more than 87% of teats classified in positive categories (S, R, and VR). Category S was the most representative in all quarters, ranging from 46.8% in the left front (LF) to 48.0% in the right rear (RR). Category R also showed considerable values, ranging from 27.8% in the right front (RF) to 29.9% in the left rear (LR). The most severe hyperkeratosis grade, VR, ranged from 9.9% (RR) to 12.5% (RF and LF), with front teats showing a higher frequency in this category. When analysing hyperkeratosis by farm, a high prevalence was observed in all herds, ranging from 63.2% (farm 9) to 97.4% (farm 5). Teat canal hyperkeratosis is an important animal welfare issue of multifactorial origin that should be monitored and prevented. It is also a reliable and easy-to-apply indicator that can be included in animal welfare assessment protocols regarding udder health in dairy cows.

KEYWORDS

dairy cows, animal welfare, CMT, teat-end hyperkeratosis

INTRODUÇÃO

O setor dos bovinos leiteiros tem evoluído significativamente, no que se refere à produtividade por animal e na exigência dos parâmetros de qualidade do leite cru, impondo maior rigor na monitorização da saúde da glândula mamária. Neste contexto, embora a mastite continue a representar a principal doença com impacto económico e sanitário no setor (Stanek et al., 2024), outros indicadores complementares de saúde do úbere têm mostrado relevância na prevenção das principais patologias, assim como no bem-estar animal.

O bem-estar animal representa uma das maiores preocupações dos consumidores, cada vez mais informados sobre os modos de produção de produtos de origem animal, tendência que tem vindo a aumentar globalmente, contrariando o padrão da compra que incidia apenas sobre a oferta e o preço do produto final, revelando uma crescente consciência ética no que concerne à forma como os alimentos são produzidos.

Indicadores fisiológicos, etológicos, produtivos e sanitários devem ser monitorizados e validados, bem como os seus mecanismos biológicos subjacentes precisam ser adequadamente compreendidos, de forma a medir corretamente o bem-estar animal (Rushen, 2003). Numa perspetiva global, a aplicação do protocolo Welfare Quality®, (2009) tornou-se prática comum na última década e permite sistematizar e integrar informação, possibilitando identificar causas de bem-estar deficientes, que levam à implementação de medidas corretivas e estratégias de melhoria, que provoquem efeitos práticos nas explorações leiteiras.

A hiperqueratose caracteriza-se pelo aparecimento de um anel espesso no orifício do teto, por vezes acompanhado de rugosidade. Este distúrbio é a resposta do canal do teto a traumatismos repetidos e altera a sua capacidade para se manter completamente fechado e impedir a infeção do úbere por microrganismos patogénicos (Neijenhuis et al., 2000). A sua expressão pode variar desde alterações ligeiras da queratina superficial até espessamentos pronunciados, fissuras e deformação da extremidade do teto (Neijenhuis et al., 2001). Graus mais severos de hiperqueratose têm sido associados a falhas na selagem do canal do teto, retenção de sujidade e aumento do risco de colonização microbiana, constituindo assim um possível fator predisponente para infeções intramamárias (Pantoja et al., 2020).

Distintos mecanismos e causas têm sido indicados como responsáveis por esta alteração fisiológica do canal do teto das vacas leiteiras, que por sua vez se agrupam em três classes de fatores: equipamento de ordenha, manejo na ordenha e características do animal (Neijenhuis et al., 2000). O nível de hiperqueratose do teto poderá estar diretamente relacionado com as condições específicas da máquina de ordenha, nomeadamente a intensidade de vácuo durante a ordenha e a prática de sobreordenha. Contudo fatores associados ao animal tais como, forma da extremidade, posição e comprimento do teto, assim como produção de leite e paridade revelaram igualmente relação com a calosidade do teto. A sobreordenha é perceptível ao ordenhador quando se visualiza alteração da cor dos tetos e através do comportamento dos animais expresso, pela maior frequência de passos e coices no final da ordenha.

Assim, a avaliação sistemática da hiperqueratose constitui um indicador útil de desempenho de ordenha, de bem-estar animal e de vulnerabilidade sanitária, podendo auxiliar a identificação de práticas incorretas de manejo e permitir a implementação precoce de medidas corretivas. Níveis elevados de hiperqueratose afetam a condição física da parte terminal dos tetos podendo causar um aumento significativo na contagem de células somáticas, que afeta diretamente a qualidade do leite, causando consequentes e significativas perdas a nível económico (Schukken et al., 2014).

Neste sentido, o presente estudo teve como principal objetivo avaliar os diferentes graus de hiperqueratose em vacas leiteiras de dez explorações do Norte de Portugal, durante a rotina de ordenha, relacionando a sua distribuição com características produtivas e sanitárias dos animais. Esta análise pretende contribuir para a compreensão da expressão da hiperqueratose em condições reais de produção e reforçar a sua aplicabilidade como ferramenta prática na monitorização da saúde do úbere.

MATERIAL E MÉTODOS

Recolheram-se dados em dez explorações leiteiras situadas no concelho de Barcelos, de acordo com os programas de visita das provas de estábulo realizadas pelo SEGALAB. Todas com sistema de ordenha mecânica convencional, especificamente com sala de ordenha em espinha, tendo permitido uma metodologia de recolha de dados mais uniforme. Avaliaram-se 558 vacas em lactação, tendo sido cada animal observado individualmente nos quatro quartos mamários.

O Teste Californiano de Mastites foi realizado em todos os quartos mamários, utilizando uma raquete própria e reagente específico de acordo com a metodologia adaptada de Ruegg e Reinemann (2002). Após a recolha de uma pequena quantidade de leite de cada quarto, adicionou-se o reagente, procedendo-se de seguida à homogeneização da mistura. A interpretação dos resultados baseou-se na observação da formação de gel ou alterações de viscosidade, permitindo efetuar a classificação em 0, 1, 2 e 3, conforme o grau de espessamento da mistura.

A avaliação de hiperqueratose do teto foi realizada, durante a rotina de ordenha, imediatamente antes da colocação das unidades de ordenha. A observação foi feita em ambiente seco e com iluminação adequada, permitindo uma inspeção visual clara da extremidade de cada teto. Nos casos em que a luminosidade natural não era suficiente, foi utilizada uma lanterna portátil para assegurar uma avaliação precisa das estruturas anatómicas. Para efeitos deste estudo, foi adotado o sistema de classificação proposto por Mein et al. (2001), que categoriza a hiperqueratose em quatro níveis, conforme a figura 1.

Todos os dados obtidos nas visitas de campo foram registados e validados em ficheiro Excel para posterior realização de tratamento estatístico. Este foi realizado com base no Microsoft Excel e o SPSS para o Windows versão 29 (SPSS, Inc.). Para determinar o efeito da fase de lactação na CCS utilizou-se o modelo ANOVA e o teste de comparação de médias Tukey.

O estudo teve como objetivo avaliar parâmetros relacionados com a saúde do úbere, na quantificação aproximada da contagem de células somáticas pela realização do TCM e ocorrência de hiperqueratose dos tetos, parâmetros de grande relevância da qualidade do leite e simultaneamente do bem-estar das vacas leiteiras.

RESULTADOS

A caracterização dos parâmetros produtivos e sanitários dos efetivos avaliados encontra-se descrita na Tabela 1. Observou-se um número médio de lactações por vaca de $2,4 \pm 1,4$ com valores mínimos de 1 e máximos de 9 lactações. Os dias em leite apresentaram uma média de $187,8 \pm 125,4$ dias, enquanto o valor de CCS foi de 459.200 células/ml, com uma grande variabilidade entre animais.

A distribuição das vacas por ordem de lactação evidencia uma predominância das duas primeiras lactações, representando mais de metade do efetivo estudado (58,6%). A categoria da primeira lactação corresponde a 30,8% das vacas, seguida pela segunda com 27,8%. A percentagem decresce progressivamente nas lactações mais avançadas, sendo de apenas 7,3% das vacas na quinta ou superiores lactações (Figura 2).

Os resultados do Teste Californiano de Mastites (TCM) que se encontram descritos na Tabela 2, demonstram que a maioria dos tetos avaliados não possuem infeção, tendo-se classificado no grau zero (0) de TCM, com frequências elevadas em todos os quartos: PD (85,5%), PE (87,4%), AD (89,9%) e AE (91,3%). A distribuição pelos graus 1, 2 e 3 revela uma redução progressiva na frequência de casos positivos, sendo que o grau 1 apresenta os valores mais elevados entre os graus positivos, sobretudo no PD (8,6%) e PE (7,6%). Os tetos AD e AE registaram percentagens inferiores, especialmente no grau 3, que representa o menor número de ocorrências em todos os tetos, com destaque para AE (0,9%). É possível observar resultados positivos de TCM (graus 1 a 3), com valores mais elevados nos tetos PD e PE com 14,6% e 12,6% respetivamente.

A hiperqueratose revelou uma elevada prevalência na extremidade dos tetos, conforme apresentado na Tabela 3. Observou-se mais de 87% dos tetos classificados em categorias positivas, tendo sido a classificação S a mais frequente em todos os quartos, variando entre 46,8% (AE) e 48,0% (PD). A classificação R também apresentou valores expressivos, entre 27,8% (AD) e 29,9% (PE). Os valores de VR tiveram menor incidência, oscilando entre 9,9% (PD) e 12,5% (AD e AE). A proporção de tetos sem lesões (N) foi reduzida em todos os quartos, com os tetos anteriores a registarem os valores mais baixos 11,8% (AD) e 11,3% (AE). Globalmente, verificou-se uma maior predominância desta patologia nos tetos anteriores, com percentagens ligeiramente superiores aos tetos posteriores. Não se observou uma relação direta entre os grau mais elevado de TCM com a hiperqueratose nem com a CSS, que pode ficar a dever-se a baixa incidência de TCM mais elevados nos animais em estudo.

Quando se analisou a distribuição da hiperqueratose por exploração, constatou-se uma elevada prevalência de tetos com hiperqueratose na maioria das mesmas. As percentagens de tetos afetados oscilaram entre 63,2% (exploração 9) e 97,4% (exploração 5). As explorações 5, 7, 8 e 10 destacam-se com os valores mais elevados, situando-se todas acima de 93% para esta patologia (Figura 3).

Por último e de acordo com a Tabela 4, é possível constatar que não se observou efeito ($P>0,05$) da fase de lactação nos valores de CCS. No entanto, identificou-se uma tendência de aumento da CCS a partir dos 180 dias de lactação (4ª fase de lactação), evidenciada pela média mais elevada de CCS (645.400 células/ml).

DISCUSSÃO

Com base nos resultados obtidos para o Teste Californiano de Mastites (TCM), que revelaram uma elevada proporção de tetos classificados com grau 0, sugerindo ausência de inflamação aparente na maioria dos quartos mamários. Observou-se que 74,7% das vacas apresentaram valores iguais ou inferiores a 200.000 células/ml, critério considerado indicativo de saúde do úbere e ausência de infeções intramamárias. Haxhij et al., (2022) e Ramuada et al., (2024) sustentam que valores abaixo deste limiar são pouco sugestivos de mastite subclínica, reforçando a fiabilidade do TCM como ferramenta de triagem eficaz e fiável.

Apesar da predominância de resultados negativos, os valores obtidos indicam também a existência de tetos com graus de TCM entre 1 e 3, sobretudo nos tetos posteriores, onde o grau 1 se destacou com valores de 8,6% no teto posterior direito (PD) e 7,6% no esquerdo (PE). A análise detalhada revelou ainda que os tetos posteriores apresentaram percentagens mais elevadas de totais positivos, PD e PE, que registaram 14,6% e 12,6%, respetivamente.

Este padrão é cientificamente previsível e amplamente descrito na literatura, sendo atribuído ao posicionamento anatómico dos tetos posteriores e à sua maior exposição ao vácuo no final da ordenha, ao contacto direto com as camas, fezes e piso da sala de ordenha, fatores que favorecem a contaminação por microrganismos ambientais (Ruegg e Reinemann, 2002 e Stanek et al., 2024).

A hiperqueratose do canal do teto é um problema relevante na população estudada, uma vez que apenas 12% dos tetos não revelaram qualquer tipo de sintoma e por outro lado observou-se que, entre 10 a 12% revelaram hiperqueratose considerada grave. Observou-se uma prevalência muito elevada desta patologia, com mais de 87% dos tetos classificados em graus positivos (S, R e VR). Este resultado indica que a hiperqueratose é uma condição amplamente disseminada nas explorações estudadas, podendo refletir práticas de ordenha pouco ajustadas ou padrões repetitivos de estímulo mecânico sobre a extremidade dos tetos. A predominância da classificação S sugere que, apesar de frequente, grande parte dos casos assume baixa gravidade para as vacas. Contudo, a presença de graus mais severos (VR), sobretudo nos tetos anteriores, pode estar associada a diferenças anatómicas e ao posicionamento do conjunto de ordenha, que pode exercer pressão desigual entre quartos mamários durante a ordenha.

Estes resultados vão de encontro ao descrito por Pantoja et al. (2020), quando afirmam que graus severos de hiperqueratose estão associados a maior risco de mastite clínica e subclínica. Os autores mostram que todos os estudos analisados que avaliaram mastite clínica detetaram associação positiva com hiperqueratose severa, reforçando a importância desta patologia como indicador sanitário.

Observou-se também uma grande variabilidade de resultados entre explorações, o que de certa forma vem dar consistência ao referenciado por Shearn e Hillerton (1996), quando mencionam que os níveis de incidência de hiperqueratose entre explorações e na própria exploração leiteira é muito variável, podendo em alguns casos mais extremos atingir 80% do efetivo, sendo mais comum em explorações leiteiras com elevadas produções associado também a longos períodos de ordenha.

Para Cardozo et al. (2025) não existe uma relação direta e estatisticamente significativa entre hiperqueratose e microrganismos causadores de mastite, no entanto observaram uma tendência de maior presença de microrganismos ambientais em tetos com níveis mais elevados de hiperqueratose. Segundo estes autores, esta tendência sugere que a hiperqueratose pode atuar como superfície de retenção de sujidade, favorecendo colonização bacteriana externa e potencial risco inflamatório secundário.

Deste modo, os resultados obtidos neste estudo reforçam a relevância da hiperqueratose como indicador de saúde do úbere. A elevada proporção de tetos com hiperqueratose, mesmo quando não associada diretamente a mastite, pode representar um risco progressivo, tal como sugerido por Cardozo et al. (2025). E à semelhança do indicado por Pantoja et al. (2020), os casos mais severos merecem atenção especial, pois estão associados a maior probabilidade de infeções intramamárias.

No que respeita à fase de lactação, revelou importância na variação dos níveis de CCS. Verificou-se que vacas nos primeiros 60 dias de lactação apresentaram uma média de 372.900 células/ml, valor que diminui para 242.800 células/ml entre os 61 a 120 dias. Esta redução inicial poderá estar associada à maior vigilância durante o início da lactação e à menor exposição acumulada a fatores de risco. Contudo, a partir dos 180 dias em leite (4ª fase de lactação), observou-se um aumento importante da CCS, atingindo uma média de 645.400 células/ml. Esta tendência foi também descrita por Antanaitis et al. (2021) e por Sandrucci et al. (2014), que relatam uma diminuição da atividade imunológica local à medida que a lactação avança, bem como para alterações fisiológicas na composição do leite, nomeadamente na concentração de lactose, gordura e proteína que afetam a qualidade do leite.

Ainda existe bastante trabalho a ser desenvolvido, no sentido de corrigir práticas de manejo e desregulações da máquina de ordenha que estejam na origem da hiperqueratose. Estes resultados também demonstram que o potencial de melhoria da saúde do úbere destes efetivos não está esgotado e que a vigilância da hiperqueratose pode resultar em melhor prevenção de mastites e, consequentemente no bem-estar das vacas leiteiras e no aumento da rentabilidade das explorações.

CONCLUSÕES

Embora na maioria das vacas o grau de TCM tenha sido baixo (classificação 0), indicando ausência de infeção aparente, a presença de estadios moderados e severos evidencia um potencial risco sanitário, associado ao nível de sujidade da glândula mamária, maior exposição microbiana e possível predisposição para mastite. A hiperqueratose por sua vez revelou elevada prevalência, com cerca de 87% dos tetos classificados em graus positivos, no entanto os graus mais severos desta patologia cifraram-se entre 10 a 13%, com maior preocupação nos tetos anteriores. A hiperqueratose do canal do teto é um problema de bem-estar importante, de origem multifatorial que importa monitorizar e prevenir, sendo igualmente um indicador fiável e de fácil aplicação para inclusão nos protocolos de avaliação de bem-estar ao nível da saúde do úbere em vacas leiteiras. Futuras investigações devem focar-se na severidade da lesão, associada aos procedimentos de ordenha, permitindo desenvolver medidas preventivas mais eficazes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANABLE (2024). Associação Nacional para o Melhoramento dos Bovinos Leiteiros. Depósito Legal: 426828/16, Aveiro.
- Antanaitis, R., Juozaitienė, V., Jonike, V., Baumgartner, W., & Paulauskas, A. (2021). Milk lactose as a biomarker of subclinical mastitis in dairy cows. *Animals*, 11(6). <https://doi.org/10.3390/ani11061736>
- Cardozo, L. L., Knob, D. A., Santos, P. T. dos, Pelizza, A., Mori, A. P., Camera, M., Ferraz, S. M., de Assis, M. Z., & Thaler Neto, A. (2025). Relationship Between Hyperkeratosis, Teat Conformation Traits, Microbiological Isolation, and Somatic Cell Count in Milk from Dairy Cows. *Dairy*, 6(4), 45. <https://doi.org/10.3390/dairy6040045>
- Haxhij, K., Wishart, D. S., & Ametaj, B. N. (2022). Mastitis: What It Is, Current Diagnostics, and the Potential of Metabolomics to Identify New Predictive Biomarkers. In *Dairy* (Vol. 3, Number 4, pp. 722–746). MDPI. <https://doi.org/10.3390/dairy3040050>
- Neijenhuis, F., Barkema, H. W., Hogeveen, H., & Noordhuizen, J. P. T. M. (2000). Classification and Longitudinal Examination of Callused Teat Ends in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 83(12), 2795–2804. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75177-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75177-0)
- Neijenhuis, F., Reinemann, D. J., Hillerton, E., & Baines, J. (2001). Evaluation of Bovine Teat Condition in Commercial Dairy Herds: 1. Non-Infectious Factors. <http://www.uwex.edu/milkquality/>
- Pantoja, J. C. F., Correia, L. B. N., Rossi, R. S., & Latosinski, G. S. (2020). Association between teat-end hyperkeratosis and mastitis in dairy cows: A systematic review. *Journal of Dairy Science*, 103(2), 1843–1855. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16811>
- Ramuada, M., Tyasi, T. L., Gumede, L., & Chitura, T. (2024). A practical guide to diagnosing bovine mastitis: a review. In *Frontiers in Animal Science* (Vol. 5). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fanim.2024.1504873>
- Ruegg, P. L., & Reinemann, D. J. (2002). Milk quality and mastitis tests. *The Bovine Practitioner*, 41–54. <https://doi.org/10.21423/bovine-vol36no1p41-54>
- Rushen, J. (2003). Changing concepts of farm animal welfare: bridging the gap between applied and basic research. *Applied Animal Behaviour Science*, 81(3), 199–214. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(02\)00281-2](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(02)00281-2)
- Sandrucci, A., Bava, L., Zucali, M., & Tamburini, A. (2014). Management factors and cow traits influencing milk somatic cell counts and teat hyperkeratosis during different seasons. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 43(9), 505–511. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982014000900008>
- Schukken YH, Bronzo V, Locatelli C, Pollera C, Rota N, Casula A, Testa F, Scaccabarozzi L, March R, Zalduendo D, Guix R & Moroni P. (2014). Efficacy of vaccination on *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci intramammary infection dynamics in 2 dairy herds. *J Dairy Sci*, 97: 5250–5264.
- Stanek, P., Żółkiewski, P., & Januś, E. (2024). A Review on Mastitis in Dairy Cows Research: Current Status and Future Perspectives. In *Agriculture (Switzerland)* (Vol. 14, Number 8). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/agriculture14081292>
- Welfare Quality®. (2009). Assessment protocol for cattle. Uppsala, Suécia.

TABELAS E FIGURAS

Figuras

Pontuação	Descrição	Ilustração
N	Hiperqueratose inexistente: extremidade do teto suave, sem anel visível, com um orifício pequeno e uniforme.	
S	Extremidade do teto com anel ligeiro a moderado. A superfície do anel pode ser suave ou ligeiramente dura, no entanto não há deposição evidente de queratina.	
R	Extremidade do teto com anel rugoso e espessamentos de queratina de 1 a 3 mm.	
VR	Hiperqueratose severa: extremidade do teto com anel extremamente rugoso, com espessamentos de queratina ≥ 4 mm. O anel que se forma é áspero e com várias rachas, dando à extremidade do teto a aparência de uma flor.	

Figura 1- Sistema de classificação da hiperqueratose dos tetos (Mein et al., 2001)

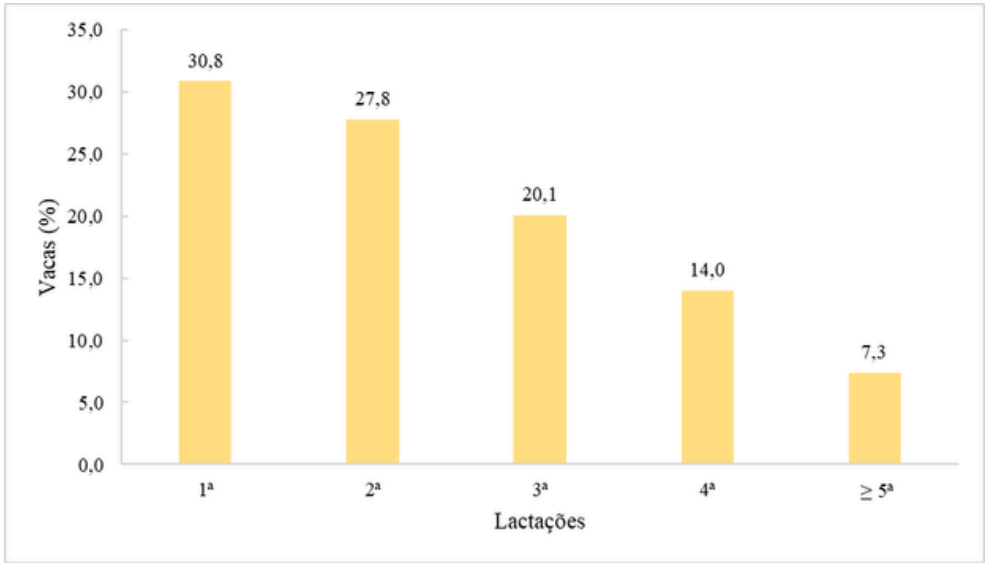


Figura 2 - Distribuição do efetivo estudado de acordo com a ordem de lactações

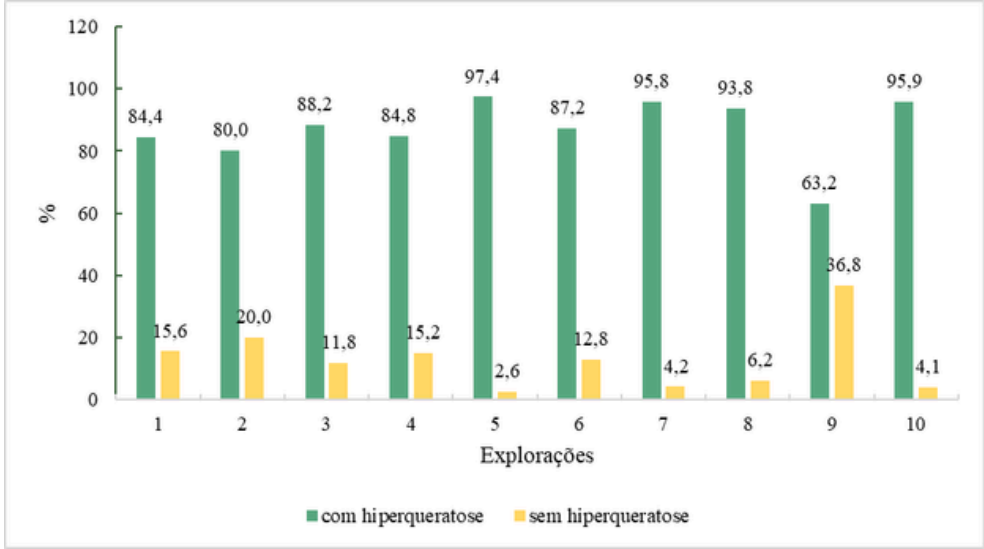


Figura 3 - Percentagem de tetos com níveis de hiperqueratose por exploração

Tabelas

Tabela 1- Estatística descritiva dos parâmetros produtivos das explorações em estudo)

Parâmetros	Média±DP	Mínimo	Máximo	CV (%)
Nº Lactações	2,4±1,4	1	9	55,8
Dias em leite (DEL)	187,8±125,4	5	615	66,8
CCS (x1000 cél/ml)	459,2±1550,6	4	18909	337,7

Tabela 2 - Frequência de resultados de TCM nas explorações em estudo (%)

TCM	PD	PE	AD	AE
0	85,5	87,4	89,9	91,3
1	8,6	7,6	7,0	5,3
2	3,0	2,0	1,7	2,4
3	3,0	3,0	1,5	0,9
Total positivos	14,6	12,6	10,2	8,6

TCM - teste californiano de mastites; PD - posterior direito; PE - posterior esquerdo; AD - anterior direito; AE - anterior esquerdo

Tabela 3- Frequência de hiperqueratose nas explorações em estudo (%)

Hiperqueratose	PD	PE	AD	AE
N	12,5	12,5	11,8	11,3
S	48,0	47,3	47,8	46,8
R	29,6	29,9	27,8	29,4
VR	9,9	10,2	12,5	12,5
Total positivos	87,5	87,5	88,2	87,7

N -sem anel; S -anel ligeiro; R -anel rugoso; VR -anel extremamente rugoso

Tabela 4 -Efeito da fase de lactação na CCS do úbere (x 1000)

Fase lactação	N	Média ±DP	Mínimo	Máximo	CV (%)
1-60	97	372,9±1131,7	4	6574	303,5
61-120	102	288,0±718,5	5	5328	249,5
121-180	102	242,8±476,3	7	3041	196,2
≥180	257	645,4±2118,5	4	18909	328,2
Sig.		NS			
Total	558	459,1±1565,1	4	18909	340,9

Sig.: Nível de significância: NS - Não significativo
CCS - Contagem de Células Somáticas

Food safety assessment of Francolin (*Pternistis bicalcaratus*) in southern Benin: physico-chemical and microbiological characterization

Gwladys Gloria Amen Ahouanse^{1,3},

Maria José Fernandes^{1,2},

Maria Helena Fernandes^{1,2},

Susana Alves^{1,2},

Cristina Mateus^{1,2},

Nuria Majaliwa³,

Abdulsudi Issa-Zacharia³,

Maria João Fraqueza^{1,2*}

¹CIISA, Center for Interdisciplinary Research in Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Avenida da Universidade Técnica, 1300-477 Lisbon, Portugal;

²AL4AnimalS, Associate Laboratory for Animal and Veterinary Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Avenida da Universidade Técnica, 1300-477 Lisbon, Portugal;

³ Department of Food Science and Agro-Processing, School of Engineering and Technology, Sokoine University of Agriculture, P.O. Box 3006, Chuo Kikuu, Morogoro, Tanzania.

*Author to whom correspondence should be addressed (e-mail: mjoaofraqueza@fmv.ulisboa.pt)

ABSTRACT

Francolin (*Pternistis bicalcaratus*) bushmeat is widely consumed in Benin, but limited scientific data exist regarding its hygienic quality and nutritional value. This study assessed the microbiological status, physicochemical parameters, and nutritional characteristics of francolin meat. The microbiological and physicochemical analyses were done by using ISO standards, and the data were analyzed using SAS software. The TAC values were high (≥ 8 log CFU/g) in both markets, reflecting poor hygiene and delayed processing. *Enterobacteriaceae* and *E. coli* counts were significantly higher in Tègon, consistent with the dry-plucking method used there, whereas scalding and plucking in Allada contributed to lower fecal contamination. Still, *Salmonella spp* and *Listeria monocytogenes* were not detected. The biogenic amines level revealed a significant difference between the markets: tryptamine with 16.51 mg/kg in Tègon, while in the Allada market was 0.05 mg/kg, also, the Biogenic Amine Index (282.8 mg/kg) was markedly higher in Tègon compared to Allada (121.58 mg/Kg), which indicates advanced microbiological and biochemical deterioration, especially in Tègon market. Nutritionally, francolin bushmeat showed a lean profile with very low fat (1.75-2.21 g/100 g), high protein (24.65-25.56 g/100 g), moderate energy (116-123.6 kcal/100 g), and low NaCl (0.03-0.08 g/100 g). Fatty-acid composition differed between markets: Allada samples were richer in MUFA, while Tègon samples contained significantly higher PUFA (32.6g/100 g vs 24.0 g/100 g). The PUFA/SFA ratio was favorable in both markets, particularly in Tègon (0.86). Francolin meat combines a highly desirable nutritional profile. However, its microbiological status and elevated levels of biogenic amines indicate substantial hygiene deficiencies along the handling chain. Improving slaughter hygiene, reducing holding time, and ensuring adequate temperature control are essential to make francolin meat safer for consumers.

KEYWORDS

Francolin, bushmeat, microbiological quality, biogenic amines, nutritional composition, food safety

INTRODUCTION

The francolin (*Pternistis bicalcaratus*), a highly valued wild terrestrial bird, is one of the most commonly consumed game birds in the West African savannah zone. In Benin, its meat is widely eaten in rural and peri-urban communities where demand for bushmeat remains high (Ahouanse et al., 2025). This is partly due to the limited accessibility and higher cost of conventional livestock products, making bushmeat an important contributor to dietary protein supply (Nasi & Fa, 2015).

Global population growth continues to exert pressure on food systems. Boulos et al. (2020) estimate that the global need for animal protein could rise by nearly 50% between 2020 and 2050. Although current discussions on alternative proteins are largely centered on plant-based, microbial, insect-derived, and cultured-protein technologies (Jafarzadeh et al., 2024), bushmeat remains a culturally embedded and nutritionally valuable option in many African contexts. However, the capture, slaughter, transport, and retail of bushmeat raise serious concerns regarding both food safety and biodiversity conservation. From a public-health perspective, the absence of regulated slaughtering conditions, weaknesses in cold-chain logistics, and often inadequate post-slaughter handling favor microbial contamination and physicochemical degradation of the meat. Several African-based studies highlighted the presence of pathogenic bacteria in bushmeat, such as *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella spp.*, and documented spoilage and quality losses (Ahouanse et al., 2023; Ikeh et al., 2021). Concurrently, from a conservation standpoint, many wild-harvested species face overexploitation. Bushmeat extraction without sustainable management decreases wildlife populations and ecosystem integrity, therefore compromising the long-term availability of this protein source (Nielsen, 2006). Additionally, the notion of domestication or semi-domestication of bushmeat species (as a complementary strategy) is increasingly discussed in the literature as a way to reduce hunting pressure, guarantee species conservation, and ensure a more controlled food-supply chain with safer meat (Adebowale et al., 2024). Given the dual importance of bushmeat as a nutritional and livelihood resource and its vulnerability from both food safety and biodiversity standpoints, it is essential to characterize the quality of the bushmeat sold and consumed in Benin. Yet, despite growing demand for francolin meat, there is limited scientific evidence concerning its microbiological status and physicochemical quality. This study assesses the microbial characteristics and nutritional composition of Francolin meat from two distinct regions of the Republic of Benin. An assessment was conducted on current pathogens and biogenic amines to evaluate their harmful effects on consumers and their role as spoilage indicators.

MATERIALS AND METHODS

Sampling collection area and processing conditions

The sampling was performed in southern Benin, on two main bushmeat markets, Tègon and Allada, (Figure 1). The Tègon bushmeat market is situated in Zogbodomey, within the Zou district, whereas the Allada meat market is in the Atlantic district. Both districts border the Lama Forest, one of the largest remaining forests in southern Benin, which serves as a major source of wildlife for these two important bushmeat markets. Tègon market primarily receives Francolin (Figure 1) from Lama, whereas Allada market is supplied not only from Lama but also from Ouedo, Djigbe Forest, and Zinvié. Hunters sell francolins originating from the Lama Forest at designated market points to traders and, in some cases, directly to consumers for household use. Francolins (Figure 2 A) from these multiple areas are transported to processing locations primarily by two-wheeled vehicles, frequently wrapped in paper or plastic bags. Most carcasses reach the markets within 2 to 12 h post-mortem.

Tègon Market Processing conditions for Francolin bushmeat

Francolins can be sold without further processing at the Tègon market, although the majority are submitted to manual processing steps before selling. The initial step involves manual defeathering. After the carcasses are rinsed with clean water, a second rinse is done with fresh or reused water. The rigor of washing differed among operators. Evisceration is performed with a longitudinal incision along the thoracoabdominal axis to remove internal organs, on makeshift surfaces such as cereal bags, teak leaves, wooden planks, or basins. The francolin carcasses are washed again, after which they are spread out (Figure 2 B), which helps to create a more uniform presentation for subsequent culinary processing. The majority of francolin carcasses continue through the rest of the process, while some are stored in the freezer at this stage. Pricing is determined by a visual appraisal of perceived meat quantity and quality rather than carcass weight. Sampling for the present study was conducted at this stage of processing.

Processing conditions of Francolin bushmeat at Allada Market

After the reception, the animals were prepared by having their feathers removed. The francolin carcass was soaked in boiling water, and the feathers were removed manually. The skinned carcasses were subsequently washed with either clean water or water previously used to wash other carcasses. Evisceration was then performed in basins or buckets through a thoracoabdominal incision to remove the internal organs. After this step, the carcasses were rewashed and stored in insulated boxes filled with ice when there were too many carcasses. Sampling for the present study was conducted at this stage.

Sampling Collection

Eight raw half-carcasses of francolins (*Pternistis bicalcaratus*) were collected from bushmeat vendors operating in each market, Tègon and Allada. All samples were aseptically placed in sterile bags and immediately transported in insulated containers with ice packs. Upon arrival, samples were stored at -12°C , subsequently transferred to the laboratory in containers filled with dry ice, and preserved at -80°C until further analyses.

Microbiological Analysis

Meat (25g) was aseptically collected from each sample and prepared according to ISO 6887-1:2017. Tenfold serial dilutions were prepared for microbiological enumeration.

Total aerobic counts (TAC) were determined on Plate Count Agar (PCA; Scharlau, Spain) after incubation at 30°C for 72 h (ISO 4833-2:2013). *Enterobacteriaceae* were enumerated on Violet Red Bile Dextrose Agar (VRBD; Scharlau, Spain) at 37°C for 24 h (ISO 21528-2:2017), while *Escherichia coli* was quantified on Tryptone Bile X-Glucuronide (TBX; Scharlau, Spain) following incubation at 44°C for 24 h (ISO 16649-2:2001). Detection of *Salmonella* spp. involved pre-enrichment in buffered peptone water (37°C , 18–20 h), selective enrichment in MKTTn (Muller-Kauffmann modified, Scharlau, Spain) and RVS (Rappaport Vassiliadis, Scharlau, Spain) broths (37°C , 24 h), and isolation on XLD and Hectoen agars (Scharlau, Spain), with confirmation according to ISO 6579-1:2017. *Listeria monocytogenes* was detected through primary and secondary enrichment in Fraser broths, followed by plating on ALOA agar (bioMérieux, Inc., Marcy l'Étoile, France) and incubation at 37°C for 48 h, with confirmation according to the guidelines of ISO 11290:2017. Enumeration was performed by direct plating of 0.5 ml of each mother solution on ALOA, with results expressed as log CFU/g after biochemical confirmation. All microbial counts were converted to logarithms of colony-forming units (log CFU/g).

Physico-chemical Analysis

Water activity (a_w), pH and color

Water activity (a_w) was measured on triplicate using a Rotronic Hygropalm HP23-A/HP23-AW-A hand-held hygrometer (Rotronic AG, Bassersdorf, Switzerland). pH was measured with an HI 2002-03 pH meter (Hanna Instruments, Italy). The average was calculated from three measurements.

The color (lightness (L^*), redness (a^*), and yellowness (b^*) coordinates) was measured on triplicate on homogenized samples using Konica Minolta CR-400/410 tristimulus colorimeter, with an illuminant D65, 2° observer angle, 11 mm illumination aperture, and 8 mm measurement aperture. The average of L^* , a^* , and b^* values was used for statistical analysis.

Nutritional parameters

Total nitrogen content was determined using the Kjeldahl method according to ISO 5983-1:2005. Crude protein content was calculated from total nitrogen using a conversion factor of 6.25. Total fat content was determined using the Soxhlet extraction method (ISO 1443:1973). Chloride content was measured by hot extraction according to ISO 1841-1:1996.

Fatty acid composition was assessed using the method outlined by Alves et al. (2015). Fatty acid methyl esters (FAME) were prepared and quantified as described by the author. The identification of individual FAME was achieved by comparison of retention times with those of commercial standards (37-component FAME mix; Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA). Results were expressed as a percentage of total fatty acids (g/100 g total FA).

Biogenic amine determination

Biogenic amines (BAs), including tryptamine, 2-phenylethylamine, putrescine, cadaverine, histamine, tyramine, spermidine, and spermine, were extracted, derivatized, and quantified in the analyzed samples following the procedure described by Alves et al. (2017). Results were expressed as mg/kg of biogenic amines. All samples were analyzed in duplicate. The limits of detection (LOD) ranged from 0.04 to 0.21 mg/kg, while the limits of quantification (LOQ) ranged from 0.09 to 0.62 mg/kg.

Statistical Analysis

The effect of market on total aerobic counts (TAC), Enterobacteriaceae, water activity (a_w), pH, color parameters (L^* , a^* , b^*), crude protein, total lipid content, fatty acid profile, and biogenic amine concentrations was assessed using the General Linear Model implemented in SAS software (PROC GLM; SAS Institute Inc., version 9.4). Model assumptions were evaluated by examining the normality of residuals using the Shapiro-Wilk test (PROC UNIVARIATE) and the homogeneity of variances using Levene's test. When these assumptions were violated, suitable data transformations or non-parametric alternatives were applied, as specified in the corresponding results. Comparisons between the two markets were performed using one-way analysis of variance (ANOVA). Statistical significance was established at $p < 0.05$. Data are reported as mean $\pm$ standard error (SE), and the sample size (n) for each market is indicated for all analyses.

RESULTS

Spoilage of francolin meat from Tègon and Allada Market

The microbiological load for total aerobic counts (TAC) of francolin meat samples was not different when coming from the Tègon or Allada markets (Table 1). Nevertheless, the TAC was very high in samples from both markets, reaching 8.05 log CFU/g in Tègon and 8.16 log CFU/g in Allada. The counts of *Enterobacteriaceae* were significantly higher in francolin meat in Tègon (5.47 log CFU/g) compared to Allada (3.68 log CFU/g). The *E. coli* loads were also higher ($p < 0.05$) in francolin meat from Tègon (4.09 log CFU/g).

The water activity (a_w) and the pH of Francolin meat were similar in Tègon and Allada markets ($p > 0.05$) (Table 2). The water activity in Francolin meat was 0.95. The Francolin meat pH from Tègon market was similar to that of meat from Allada (5.99). The color of Francolin raw meat didn't show a significant difference between the different origins ($p > 0.05$). Only the L^* value showed a significantly higher difference in Allada francolin meat compared to Tègon francolin meat.

The Biogenic amine levels in Francolin meat in Tègon and Allada markets are presented in (Table 3). The level of phenylethylamine, putrescine, cadaverine, and spermidine was similar on meat coming from the two markets ($p > 0.05$). The content of tryptamine, histamine, tyramine, spermine, and the biogenic amine Index showed a significant difference between the francolin meat from Tègon and Allada ($p < 0.05$).

Nutrition value of francolin meat from Tègon and Allada Market

The calculated Energy in francolin raw meat from the Allada market (123.63 kcal/100g) was significantly higher than from the Tègon market (116.0 kcal/100g) (Table 4). The NaCl levels were low and showed a slightly significant difference in francolin meat between Tègon Market (0.08 g/100g) and Allada Market (0.03g/100g). Total fat and crude protein were similar on francolin meat from the different markets. Table 5 presents the fatty acid composition of francolin bushmeat. In general, there was significant variation in some fatty acids in Francolin bushmeat across markets ($p < 0.05$). The predominant fatty acid was saturated fatty acids (SFA) (39.92-38.55), followed by the Polyunsaturated fatty acid (PUFA) (32.58-23.18) and monounsaturated fatty acid (MUFA) (28.87-36.05). The predominant fatty acids identified were palmitic acid (C16:0; 22.30-26.59) and stearic acid (C18:0; 11.33-13.86) among saturated fatty acids (SFA), oleic acid (26.64-32.91) as the major monounsaturated fatty acid (MUFA), and linoleic acid (C18:2n-6; 16.65-21.48) as the principal polyunsaturated fatty acid (PUFA).

DISCUSSION

Spoilage of francolin meat from the Tègon and Allada markets

The microbial load was high in both markets for raw francolin bushmeat. The TAC mean was (≈ 8 log CFU/g) in the different markets; this result is higher than that found by Cordero et al. (2019) in wild pigeons in Spain (2.90 log CFU/g, Table 1). Above approximately 6 to 7 log CFU/g, meat begins to show signs of sensory deterioration and/or increased health risks (Abdullah et al., 2025). The high level of TAC in this study is probably caused by failures in hygiene during the processing of slaughtering and post-slaughtering. The transportation and processing methods applied in both markets were broadly similar and conducted under unsanitary conditions, thereby increasing the risk of microbial contamination (Korkmaz et al., 2022). Studies have shown that high ambient temperatures and delayed carcass processing, inadequate handling during transport or slaughter, lack of chilling and hygienic slaughtering surfaces, contribute to meat spoilage by promoting bacterial growth, increasing surface contamination, and altering physicochemical parameters (Kenaw et al., 2024).

The *Enterobacteriaceae* loads in francolin meat were significantly high in Tègon market (5.47 log CFU/g). The *E. coli* loads were not significantly high; however, in Tègon market, the load remained high (4.09 log CFU/g) compared to Allada market (2.83 log CFU/g). Such results are strong indicators of fecal contamination and poor process hygiene (Belluco et al., 2016). The high loads of *Enterobacteriaceae* and *E. coli* are probably due to the method of defeathering in Tègon market, which is made by simply plucking the feathers by hand, whereas at Allada market, the francolin carcass is first immersed in boiling water (scalding) before the feathers are plucked. This immersion of the carcasses in boiling water probably reduces the presence of fecal bacteria on carcasses (Langkabel et al., 2023; Zhang et al., 2013). This difference can also be related to the time-to-processing and the ambient exposure. In the different samples analyzed, the pathogenic *Listeria monocytogenes* and *Salmonella spp.* were not detected in 25g of sample. Overall, the consumption of the francolin bushmeat should be done with good culinary practices to keep the meat sensory and avoid the development of potential microbial hazards.

The water activity values measured in francolin meat from both markets were identical ($a_w = 0.95$, Table 2). Similar levels of water activity have also been reported by Gumus and Gelen (2023) and Orkusz et al., (2024) in chicken drumstick and turkey meat, respectively, and are known to support the growth of spoilage and pathogenic microorganisms when adequate temperature control is not maintained. The pH values obtained in this study (5.98-5.99) fall within the range generally reported for post-rigor poultry and other meats of normal quality, which typically show ultimate pH values between 5.6 and 6.0 (Li et al., 2019). The color parameter lightness was significantly different between markets, with francolin meat from Allada being lighter ($L^* = 64.18$) than that from Tègon ($L^* = 53.31$).

Some studies on poultry breast meat have shown that higher L^* values are associated with paler meat and are often linked to differences in muscle pH, water-holding capacity, and drip loss (Garcia et al., 2010). Moreover, storage and surface exposure can increase L^* values over time, reflecting changes in surface moisture and protein structure (Kot vel Ławecka et al., 2019). The lower lightness in Tègon compared with Allada may also reflect differences in bleeding, carcass handling, exposure, and display conditions between markets.

The concentrations of biogenic amines (BAs, Table 3) measured in francolin meat reveal clear differences between markets, indicating variations in freshness, hygiene, and handling practices. The level of tryptamine in Allada (0.05 mg/kg) is consistent with the very low concentrations reported in chicken breast and leg meat by Wojcik et al. (2023). However, the tryptamine level found in the Tègon market (16.51 mg/kg) was extremely high. This situation is likely related to differences in handling procedures between markets, including factors such as storage temperature, duration of exposure in ambient temperature, and overall sanitary conditions (Wojcik et al., 2023). Similarly, the tyramine level at Tègon (187.52 mg/kg) is significantly higher than that of Allada (109.85 mg/kg). This high level of tyramine is comparable to that found by Lazaro et al. (2015) in duck meats (135 mg/kg). Esposito et al. (2022) noted that tyramine concentrations in chicken meat reached 200 mg/kg after 15 days at 4°C. Although the values found in francolin meat remain below those observed in severely deteriorated poultry products, they nevertheless highlight differences in post-slaughter handling between markets. Endogenous polyamines, such as spermidine and spermine, showed limited variation between markets, which aligns with their relatively low sensitivity to post-mortem microbial changes (Liu et al., 2024). The higher spermine content observed in Allada is likely attributable to physiological variations among animals rather than spoilage. The diamines putrescine and cadaverine, although higher at Tègon, did not differ significantly between markets. Their presence remains relevant as spoilage indicators and can potentiate the effects of histamine (Schirone et al., 2022). Histamine, which was significantly higher at Tègon (5.58 mg/kg), remains below toxic thresholds. The Biogenic Amine Index (BAI) reinforces the observed quality differences between markets, with markedly higher values recorded at Tègon (282.8 mg/kg) compared to Allada (121.6 mg/kg). Several studies on meat and poultry indicate that BAI values exceeding 50 mg/kg are generally associated with reduced hygienic quality and increased microbial activity (Wójcik et al., 2022). In this context, the elevated BAI measured at both markets, particularly at Tègon, suggests lower freshness and a more advanced stage of biochemical and microbial degradation. On the other hand, biogenic amines are produced through the decarboxylation of amino acids by specific bacteria, some are members of the *Enterobacteriaceae* family (Fraqueza et al., 2012; Schirone et al., 2022).

The microbiological analyses revealed markedly elevated *Enterobacteriaceae* counts in meat from Tègon, which likely contributed to the high levels of biogenic amines index observed in these samples. These findings are consistent with previous reports highlighting the strong relationship between high BAI scores and meat spoilage processes in poultry and meat products (Fraqueza et al., 2012; Wojcik et al., 2023). Overall, the BA profile of francolin meat from Tègon is characteristic of greater microbial proliferation and more advanced degradation. These high concentrations of biogenic amines correlate with compromised meat quality and safety, reinforcing the need for improved handling practices across markets.

Nutritional characteristics of Francolin meat from Tègon and Allada Market

In this study, francolin meat showed a moderate energy density. Energy values ranged from 116 kcal/100 g at Tègon to 123.6 kcal/100 g at Allada (Table 4), with corresponding crude protein contents of 24.65-25.56 g/100g and total fat levels between 1.75 g/100g (Tègon) and 2.21 g/100g (Allada). The slightly higher energy and fat contents observed in Allada suggest a slightly fattier carcass or differences in diet and/or age of the animals, although protein contents are comparable between the two markets ($p > 0.05$).

Recent studies on chicken breast and local chicken genotypes report crude protein contents around 21-22 g/100 g and intramuscular fat usually above 3-4 g/100 g, energy between: 128-137 kcal/100 g confirming that standard chicken often has slightly higher energy and fat than the francolin analyzed here (Hailemariam et al., 2022). The low fat content of francolin meat is also comparable to or even lower than that reported for some game-type or alternative poultry species like Guinea fowl meat (Penkov et al., 2017), and quail meat (Food Struck, 2016). In contrast, duck meat is nutritionally richer but much more energy-dense, with 19 g protein, 28.5 g fat, and 337 kcal/100 g, depending on whether the skin is present (USDA, 2019). Francolin meat is leaner than quail and duck, and at least as favorable as guinea fowl in terms of fat and energy content.

Protein values obtained for francolin (≈ 25 g/100 g) are within the upper range reported for poultry meat and game birds. Studies on local or alternative poultry (guinea fowl, quail, slow-growing chicken genotypes) consistently highlight protein levels between 20 and 25 g/100 g, associated with a good amino acid profile and favorable digestibility (Khalifa et al., 2016). This suggests that francolin meat can be considered a high-quality source of animal protein, comparable to or slightly superior to many commercial poultry species in protein density per 100 g, while remaining lower in fat.

The NaCl values in francolin meat were very low (0.03-0.08 g/100g) in both markets. This low intrinsic salt level in francolin meat is nutritionally advantageous for consumers who need to limit sodium intake, as most of the dietary salt load will be determined by culinary practices rather than the meat itself. Overall, the nutritional profile of francolin bushmeat is characterized by high protein, very low fat, and moderate energy values, placing it among the healthier meat options when compared with common poultry such as chicken, quail, and duck. These characteristics, combined with its game origin, suggest that francolin meat could be promoted as a lean, nutrient-dense alternative within diversified diets, provided that issues related to hunting pressure, species conservation, and hygienic handling are adequately addressed.

The fatty acid (FA) composition of francolin bushmeat revealed that the saturated fatty acids (SFA) were 39.92 g/100g of total fatty acids in Allada and 38.55 g/100g in Tègon, with palmitic (C16:0) and stearic acids (C18:0) as the dominant contributors. These values are comparable to the one found by Kinsner et al. (2025) in chicken meat which was 39.61g/100g for the chicken with normal feeding. However, slightly high, they are also comparable to the levels reported for guinea fowl reared under conventional diets for turkey and broiler, which were (35.80-35.53 g/100g) in breast and (35.72-37.13 g/100g) in thigh (Batkowska et al., 2021).

The monounsaturated (MUFA) and polyunsaturated fatty acids (PUFA) levels were significantly different for francolin bushmeat between the markets. Francolins meat from Allada exhibited significantly higher MUFA content compared to the Tègon sample. In both markets the main content of MUFA was oleic acid (C18:1c9), a pattern commonly seen in farmed poultry such as chicken, guinea fowl, caille, where C18:1C may exceed 60 g/100g of total MUFA (Chepkemai et al., 2017). Conversely, Francolin meat from Tègon market displayed significantly higher PUFA levels (32.6 g/100g vs 24.0 g/100g, $p = 0.015$), particularly in linoleic (C18:2 n-6) and arachidonic acid (C20:4 n-6).

The PUFA levels in samples from Tègon market were similar to values reported for farmed Caille PUFA-rich diets (29-30 g/100g), but PUFA in francolin bushmeat from both markets were very significantly superior to those found in wild Caille (3.32) (Khalifa et al., 2016).

The PUFA/SFA ratio, one of the key indicators of lipid nutritional quality, was favorable in both markets (>0.4) for human nutrition (Wood et al., 2004). However, this ratio was higher in Tègon market, 0.86, compared to Allada market, 0.62. This suggests that Tègon francolins provide a particularly beneficial lipid profile from a human nutrition perspective.

The n-6/n-3 ratio is also an important indicator; its values in francolin meat from both markets were not significantly different but remained relatively high (8.7-10.1). Its level is superior to the one recommended by the National Institute of Health of the USA, quoted by Simopoulos (2002), which should be between 1 and 2. However, these values align with those commonly found in farmed poultry like chicken meat (8-10) and are inferior to the ratio found in farmed guinea fowl meat (19-22) found by (Batkowska et al., 2021).

Overall, francolin bushmeat exhibits a nutritionally advantageous FA profile, particularly in Tègon, where higher PUFA and PUFA/SFA values suggest better cardioprotective potential. These inter-market differences may reflect variations in diet composition, habitat resources, or physiological status of hunted birds. The fatty-acid composition of francolin thus positions it as a lean game bird with a lipid profile equal or superior to many conventional poultry species.

CONCLUSION

This study provides an integrated assessment of microbiological, biochemical, and nutritional characteristics of francolin meat sold in the Tègon and Allada markets. Results indicate that francolin meat has a highly favorable nutritional profile, characterized by high protein content, low fat levels, moderate energy density, and beneficial fatty acid composition, particularly a high PUFA/SFA ratio. However, its hygienic quality remains a major concern. Elevated microbial loads, especially in Tègon, along with higher BA concentrations, point to deficiencies in slaughter hygiene, handling practices, and temperature control throughout the supply chain. Nevertheless, francolin meat is a lean, nutrient-dense game meat with a lipid profile comparable to or superior to conventional poultry. Realizing its full nutritional potential requires improved hygiene, carcass processing, and storage conditions to mitigate microbial risks and ensure consumer safety. Future studies should investigate seasonal influence, assess sustainable harvesting and captive breeding, and further evaluate meat quality to support public health, food security, and wildlife conservation.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to the RSIF/PASET for financial support and the Center for Interdisciplinary Research in Animal Health (CIISA), AL4AnimalS, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, for their assistance during our internship.

FUNDING

This study was funded by the Regional Scholarship and Innovation Fund (RSIF) of the Partnership for Skills in Applied Sciences, Engineering and Technology (PASET) (Project Grant No. P165581) grant to SACIDS Africa Centre of Excellence for Infectious Diseases of Humans and Animals in Southern and East Africa (SACIDS-ACE) at the Sokoine University of Agriculture (SUA). Additional support was provided by Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT, Lisbon, Portugal) through CIISA project UIDB/00276/2020 (CIISA), and LA/P/0059/2020 (AL4AnimalS) with financial support of the project AL4A-PROJ-LT1.3 - Safety and acceptability assessment of green label cured meat products.

REFERENCES

- Abdullah, A. Y., Al-Nabulsi, A., Jamama'h, M., Khataybeh, B., & Al-Ghadi, M. (2025). Microbial Shelf Life and Quality Assessment of Broiler Breast Meat: The Role of Cold Storage and Carcass Weight. *Foods*, 14(4), 640. <https://doi.org/10.3390/foods14040640>
- Adebowale, T., Ibiyomi, B. B., Akintunde, O. A., Ijose, O. A., & Olaiyifa, M. B. (2024). Assessing preference and perception of bushmeat consumers among households in ibadan, oyo state. *Fudma Journal of Sciences*, 8(1), 233-237. <https://doi.org/10.33003/fjs-2024-0801-2266>
- Ahouanse, G. G. A., Issa-Zacharia, A., & Majaliwa, N. (2023). Bushmeat Consumption in Africa: A Microbiological Safety Challenge? *Asian Food Science Journal*, 22(9), 149-157. <https://doi.org/10.9734/afsj/2023/v22i9667>
- Ahouanse, G. G. A., Majaliwa, N., & Issa-Zacharia, A. (2025). Impact of bushmeat consumption on health risk management in Southern Benin. *African Journal of Food Science*, 19(5), 70-83. <https://doi.org/10.5897/AJFS2025.2339>
- Alves, S. P., Raundrup, K., Cabo, Â., Bessa, R. J. B., & Almeida, A. M. (2015). Fatty Acid Composition of Muscle, Adipose Tissue and Liver from Muskoxen (*Ovibos moschatus*) Living in West Greenland. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145241>
- Batkowska, J., Drabik, K., Karwowska, M., Ahsan, U., Raza, I., Adamczuk, A., & Horecka, B. (2021). Growth performance and meat quality of meat-type guinea fowl fed different commercial diets. *Archive Animal Breeding*, 64(2), 325-334. <https://doi.org/10.5194/aab-64-325-2021>
- Belluco, S., Barco, L., Roccato, A., & Ricci, A. (2016). *Escherichia coli* and Enterobacteriaceae counts on poultry carcasses along the slaughterline: A systematic review and meta-analysis. *Food Control*, 60, 269-280. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.07.033>
- Boulos, S., Tännler, A., & Nyström, L. (2020). Nitrogen-to-Protein Conversion Factors for Edible Insects on the Swiss Market: *T. molitor*, *A. domesticus*, and *L. migratoria*. *Frontier in Nutrition*, 7. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00089>
- Chepkemai, M., Macharia, J. W., Oyier, P., Malaki, P., Ndiema, E., Agwanda, B., Obanda, V., Ngeiywa, K., Kasiiti, J., & Ommeh, S. (2017). Physical characteristics and nutritional composition of meat and eggs of five poultry species in Kenya. *Livestock Research for Rural Development*, 29
- Cordero, J., Alonso-Calleja, C., García-Fernández, C., & Capita, R. (2019). Microbial Load and Antibiotic Resistance Patterns of *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* Isolates from the Meat of Wild and Domestic Pigeons. *Foods*, 8(11), 536. <https://doi.org/10.3390/foods8110536>
- Food Struck (2016). Quail meat nutrition: Calories, carbs, GI, protein, fiber, fats. Food Struct. <https://foodstruct.com/food/quail-meat>
- Fraqueza, M. J., Alfaia, C. M., & Barreto, A. S. (2012). Biogenic amine formation in turkey meat under modified atmosphere packaging with extended shelf life: Index of freshness. *Poultry Science*, 91(6), 1465-1472. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01577>

Garcia, R. G., Freitas, L. de, Schwingel, A. W., Farias, R. M., Caldara, F. R., Gabriel, A. M. A., Graciano, J. D., Komiyama, C. M., & Paz, I. A. (2010). Incidence and physical properties of PSE chicken meat in a commercial processing plant – DOAJ. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 12(4), 233-237

Gumus, R., & Gelen, S. U. (2023). Effects of dietary thyme and rosemary essential oils on performance parameters with lipid oxidation, water activity, pH, colour and microbial quality of breast and drumstick meats in broiler chickens. *Archive Animal Breeding*, 66(1). <https://aab.copernicus.org/articles/66/17/2023/>

Ikeh, I. M., Anele, B. C., & Ogbodo, U. A. (2021). Assessment of Microbiological Quality Associated with Ready- to- Eat Bush Meat Sold at Rumuokoro Market in Rivers State | *Asian Journal of Research in Zoology*. <https://journalajriz.com/index.php/AJRIZ/article/view/83>

Jafarzadeh, S., Qazanfarzadeh, Z., Majzoobi, M., Sheiband, S., Oladzadabbasabad, N., Esmaeili, Y., Barrow, C. J., & Timms, W. (2024). Alternative proteins; A path to sustainable diets and environment. *Current Research in Food Science*, 9, 100882. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2024.100882>

Khalifa, A. H., Omar, M. B., Hussein, S. M., & Abdel- mbdy, H. E. (2016). (PDF) Nutritional Value of Farmed and Wild Quail Meats. https://www.researchgate.net/publication/358065543_Nutritional_Value_of_Farmed_and_Wild_Quail_Meats

Kinsner, M., Szkopek, D., Jaworska, D., Kotlarska, A., Przybylski, W., Bień, D., Michalczyk, M., Cieślak, A., Kozłowski, K., Matusevičius, P., & Konieczka, P. (2025). Dietary cannabidiol and nanoselenium mediates post-infection changes in the profiles of fatty acids, sarcoplasmic proteins, and meat properties of *C. perfringens*-challenged chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 329, 116487. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2025.116487>

Korkmaz, B., Maaz, D., Reich, F., Gremse, C., Haase, A., Mateus-Vargas, R. H., Mader, A., Rottenberger, I., Schafft, H. A., Bandick, N., Nöckler, K., Alter, T., Lahrssen-Wiederholt, M., & Steinhoff-Wagner, J. (2022). Cause and Effect Analysis between Influencing Factors Related to Environmental Conditions, Hunting and Handling Practices and the Initial Microbial Load of Game Carcasses. *Foods*, 11(22), 3726. <https://doi.org/10.3390/foods11223726>

Kot vel Ławecka, K., Banaszewska, D., & Biesiada-Drzazga, B. (2019). The effect of packaging systems on selected quality characteristics of poultry meat. *Acta Scientiarum Polonorum Zootecnica*, 18(2). https://asp.zut.edu.pl/2019/18_2/asp-2019-18-2-01.pdf

Langkabel, N., Freter, S., Merle, R., Ellerbroek, L., Meemken, D., & Fries, R. (2023). Enterobacteriaceae counts influenced by different scalding techniques in broiler processing. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 19(1), 49-58. <https://doi.org/10.1007/s00003-023-01470-9>

Li, J., Yang, C., Peng, H., Yin, H., Wang, Y., Hu, Y., Yu, C., Jiang, X., Du, H., Li, Q., & Liu, Y. (2019). Effects of Slaughter Age on Muscle Characteristics and Meat Quality Traits of Da-Heng Meat Type Birds. *Animals*, 10(1), 69. <https://doi.org/10.3390/ani10010069>

Liu, Y., He, Y., Li, H., Jia, D., Fu, L., Chen, J., Zhang, D., & Wang, Y. (2024). Biogenic amines detection in meat and meat products: The mechanisms, applications, and future trends. *Journal of Future Foods*, 4(1), 21-36. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2023.05.002>

- Nielsen, M. R. (2006). Importance, cause and effect of bushmeat hunting in the Udzungwa Mountains, Tanzania: Implications for community based wildlife management. *Biological Conservation*, 128(4), 509-516. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.10.017>
- Orkusz, A., Rampanti, G., Michalczyk, M., Orkusz, M., & Foligni, R. (2024). Impact of Refrigerated Storage on Microbial Growth, Color Stability, and pH of Turkey Thigh Muscles. *Microorganisms*, 12(6), 1114. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12061114>
- Penkov, D., Nikolova, M., Angelov, A., & Peltekov, A. (2017). Chemical Composition and Energy Nutritional Value of the Meat of Guinea Fowls (*Numidameleagris*), Fattened to different Ages. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 2(6), 2965-2972. <https://doi.org/10.22161/ijeab/2.6.24>
- Simopoulos, A. P. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 56(8), 365-379. [https://doi.org/10.1016/S0753-3322\(02\)00253-6](https://doi.org/10.1016/S0753-3322(02)00253-6)
- USDA. (2019a). Chicken, broilers or fryers, meat and skin, cooked, roasted – Nutrients – SR Legacy | USDA FoodData Central. <https://fdc.nal.usda.gov/food-details/171450/nutrients>
- SDA. (2019b). Duck meat nutrition: Calories, carbs, GI, protein, fiber, fats. *Food Struct.* <https://foodstruct.com/food/duck-meat>
- Wójcik, W., Damaziak, K., Łukasiewicz-Mierzejewska, M., Swider, O., Niemiec, J., Wójcicki, M., Roszko, M., Gozdowski, D., Riedel, J., & Marzec, A. (2023). Correlation between Biogenic Amines and Their Precursors in Stored Chicken Meat. *Applied Sciences-Basel*, 13(22), 12230. <https://doi.org/10.3390/app132212230>
- Wójcik, W., Łukasiewicz-Mierzejewska, M., Damaziak, K., & Bień, D. (2022). Biogenic Amines in Poultry Meat and Poultry Products: Formation, Appearance, and Methods of Reduction. *Animals*, 12(12), 1577. <https://doi.org/10.3390/ani12121577>
- Wood, J. D., Richardson, R. I., Nute, G. R., Fisher, A. V., Campo, M. M., Kasapidou, E., Sheard, P. R., & Enser, M. (2004). Effects of fatty acids on meat quality: A review. *Meat Science*, 66(1), 21-32. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(03\)00022-6](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00022-6)
- Zhang, L., Singh, P., Lee, H. C., & Kang, I. (2013). Effect of hot water spray on broiler carcasses for reduction of loosely attached, intermediately attached, and tightly attached pathogenic (*Salmonella* and *Campylobacter*) and mesophilic aerobic bacteria. *Poultry Science*, 92(3), 804-810. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02504>

TABLES AND FIGURES

Figures

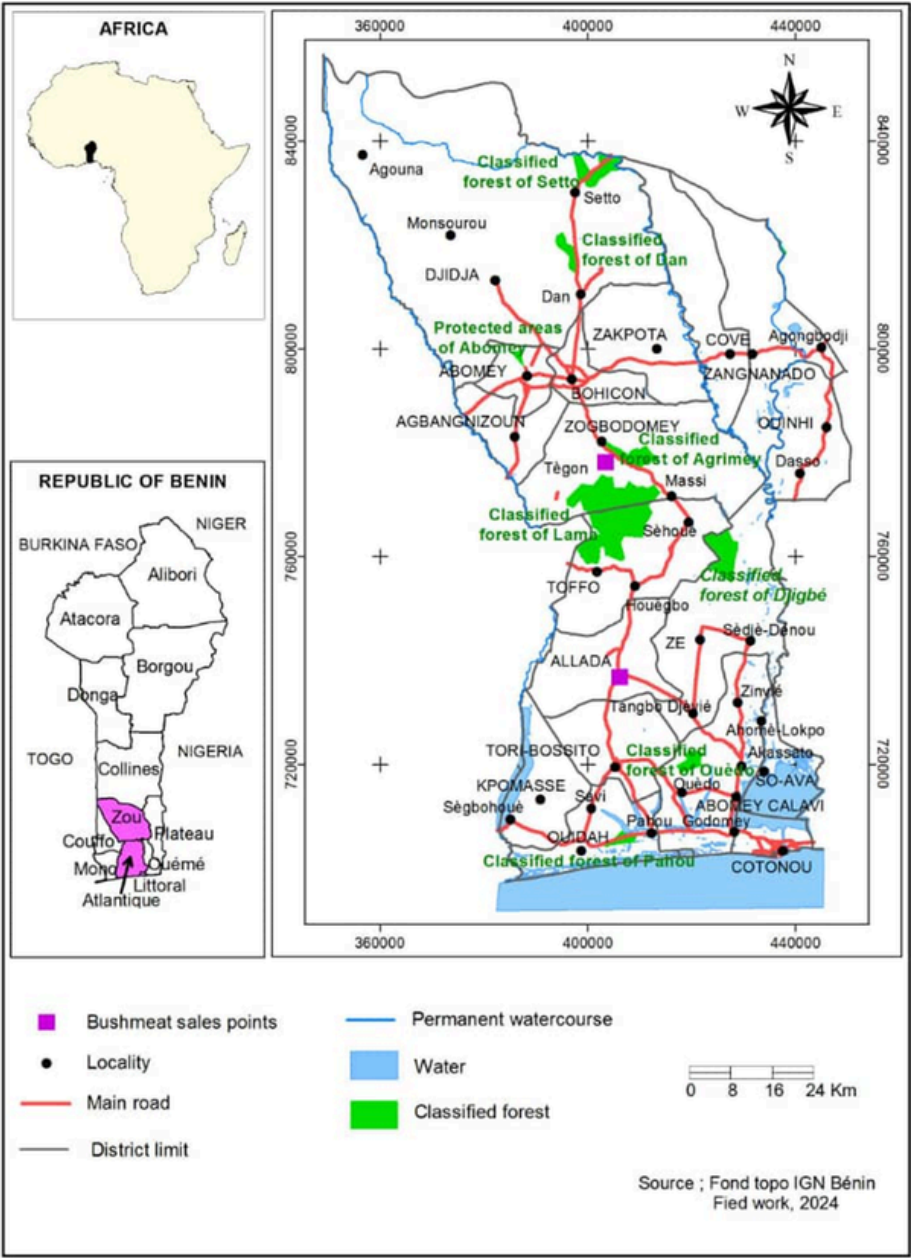
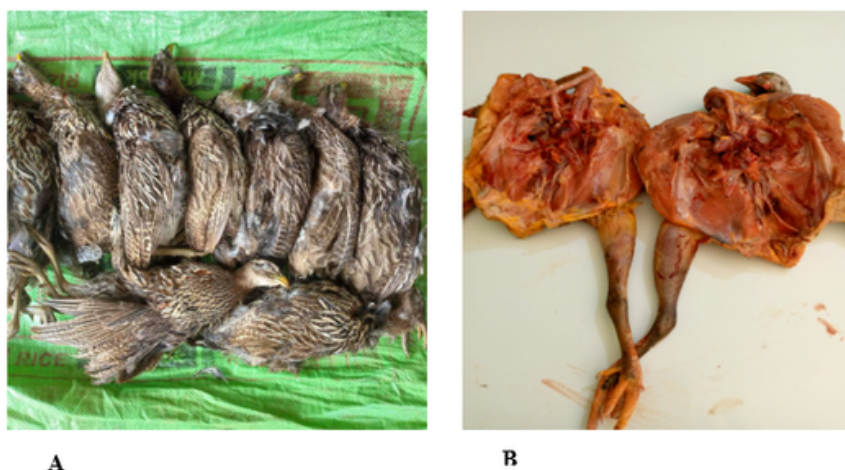


Figure 1: Map of the sampling collecting area showing Bushmeat Markets



A

B

(A) Francolin (*Pternistis bicalcaratus*) when it arrived at the market.

(B) Francolin carcasses after being eviscerated, defeathered, washed, and spread out.

Figure 2: Francolin hunted prepared pictures

Tables

Table 1: Mean bacterial values in Allada and Tègon markets and ANOVA significance levels for Francolin meat

Bacteria (log cfu/g)	Tègon Mean±SE(n=6)	Allada Mean±SE(n=6)	p-value	Significance
TAC at 30°C	8.05±0.12	8.16±0.12	0.55	NS
<i>Enterobacteriaceae</i>	5.47± 0.53	3.68± 0.53	0.04	*
<i>E. coli</i>	4.09± 0.63	2.83± 0.63	0.19	NS

NS : p>0.05 ; *: p<0.05 SE= Standard error, TAC=Total Aerobic Counts, *E. coli*= *Escherichia coli*

Table 2: Physico-chemical mean by market in francolin meat

Parameters	Tègon Mean±SE(n=6)	Allada Mean±SE(n=6)	p-value	Significance
aw	0.95±0.001	0.95±0.001	0.81	NS
pH	5.98±0.08	5.99±0.08	0.94	NS
<i>L</i> [*]	53.31±1.63	64.18±1.63	0.001	***
<i>a</i> [*]	7.33±0.65	7.47±0.65	0.88	NS
<i>b</i> [*]	17.89±0.94	17.181±0.94	0.6	NS

NS : p>0.05 ; ***: p<0.005 SE= Standard error, a_w= atividade da água

Table 3: Biogenic amine profile of raw francolin meat at Allada and Tègon markets.

BA (mg/kg)	Tègon Mean±SE (n=6)	Allada Mean±SE (n=6)	p-value	Significance
Tryptamine	16.51± 1.88	0.05±1.88	0.0001	***
Phenylethylamine	2.32±0.44	1.12±0.44	0.083	NS
Putrescine	12.00±2.61	4.25±2.61	0.0621	NS
Cadaverine	77.70±26.46	11.58±26.46	0.1077	NS
Histamine	5.58±0.30	2.82±0.30	<.0001	***
Tyramine	187.52±20.38	109.85±20.38	0.0225	***
Spermidine	6.18±0.34	6.48±0.34	0.5441	NS
Spermine	42.30±2.79	57.02±2.79	0.0039	***
BAs	282.80±46.79	121.58±46.79	0.0419	*

NS : p>0.05 ; *: p<0.05; Bas=Biogenic amines mg/Kg; BAs=Biogenic amine Index, SE= Standard error

Table 4: Nutritional composition of Francolin bushmeat in different markets

Parameters	Tègon Mean±SE (n=6)	Allada Mean±SE (n=6)	p-value
Energy (Kcal/100 g)	116.00±0.98	123.63±0.98	0.001
Energy (Kj/100 g)	484.86±4.09	516.79±4.09	0.001
Total fat (g/100g)	1.75±0.11	2.21±0.11	2.02
Crude protein (g/100g)	24.65±0.32	25.56±0.32	0.07
NaCl (g/100g)	0.08±0.01	0.03±0.01	0.05

NS : p>0.05, ***: p<0.005, SE= Standard error

Table 5: Fatty acid Profile (g/100 g total FA) and Fatty acid Ratio of francolin bushmeat by market

Fatty acid	Tegon (Mean $\pm$ SE)	Allada (Mean $\pm$ SE)	p-value
C10:0	0.01 $\pm$ 0.01	0.01 $\pm$ 0.01	0.942
C12:0	0.18 $\pm$ 0.05	0.14 $\pm$ 0.02	0.491
C14:0	0.63 $\pm$ 0.08	0.81 $\pm$ 0.07	0.106
C15:0	0.13 $\pm$ 0.05	0.12 $\pm$ 0.01	0.8
C16:0	22.30 $\pm$ 1.16	26.59 $\pm$ 1.93	0.086
C17:0	0.50 $\pm$ 0.14	0.36 $\pm$ 0.03	0.351
C18:0	13.86 $\pm$ 1.25	11.33 $\pm$ 0.55	0.094
C20:0	0.51 $\pm$ 0.09	0.32 $\pm$ 0.02	0.065
C22:0	0.36 $\pm$ 0.13	0.20 $\pm$ 0.08	0.311
C24:0	0.09 $\pm$ 0.02	0.05 $\pm$ 0.01	0.116
C14:1c9	0.00 $\pm$ 0.00	0.01 $\pm$ 0.01	0.341
C16:1c7	0.20 $\pm$ 0.03	0.31 $\pm$ 0.02	0.015
C16:1c9	0.34 $\pm$ 0.08	1.11 $\pm$ 0.22	0.007
C17:1c9	0.02 $\pm$ 0.02	0.06 $\pm$ 0.02	0.106
C18:1c9	26.64 $\pm$ 1.85	32.91 $\pm$ 1.17	0.017
C18:1c11	1.31 $\pm$ 0.06	1.39 $\pm$ 0.04	0.271
C20:1c11	0.37 $\pm$ 0.08	0.26 $\pm$ 0.01	0.159
C16:2n-6	0.03 $\pm$ 0.01	0.05 $\pm$ 0.02	0.359
C18:2n-6	21.48 $\pm$ 0.99	16.65 $\pm$ 1.56	0.026

Table 5: Fatty acid Profile (g/100 g total FA) and Fatty acid Ratio of francolin bushmeat by market

Fatty acid	Tegon (Mean $\pm$ SE)	Allada (Mean $\pm$ SE)	p-value
C20:2n-6	0.22 $\pm$ 0.03	0.15 $\pm$ 0.02	0.092
C20:3n-6	0.16 $\pm$ 0.10	0.15 $\pm$ 0.09	0.974
C20:4n-6	6.01 $\pm$ 0.51	4.08 $\pm$ 0.46	0.018
C22:4n-6	0.77 $\pm$ 0.09	0.52 $\pm$ 0.05	0.038
C18:3n-3	1.75 $\pm$ 0.80	0.73 $\pm$ 0.10	0.237
C20:3n-3	0.00 $\pm$ 0.00	0.01 $\pm$ 0.01	0.341
C20:5n-3	0.19 $\pm$ 0.13	0.10 $\pm$ 0.02	0.478
C22:5n-3	0.65 $\pm$ 0.11	0.55 $\pm$ 0.07	0.482
C22:6n-3	1.32 $\pm$ 0.18	1.00 $\pm$ 0.11	0.149
C20:3n-9	0.00 $\pm$ 0.00	0.05 $\pm$ 0.01	0.002
SFA	38.55 $\pm$ 1.58	39.92 $\pm$ 1.53	0.548
MUFA	28.87 $\pm$ 1.85	36.05 $\pm$ 1.03	0.007
n-3PUFA	3.91 $\pm$ 1.06	2.38 $\pm$ 0.21	0.188
n-6PUFA	28.67 $\pm$ 1.42	21.60 $\pm$ 2.03	0.017
PUFA	32.58 $\pm$ 1.85	23.98 $\pm$ 2.21	0.014
PUFA/SFA ratio	0.86 $\pm$ 0.07	0.61 $\pm$ 0.08	0.041
n-6/n-3 ratio	10.36 $\pm$ 2.74	9.13 $\pm$ 0.42	0.667

NS : p>0.05 ; ***: p<0.005, SE= Standard error

SFA = 12:0 + 14:0 + 15:0 + 16:0 + 17:0 + 18:0 + 20:0 + 21:0 + 22:0; MUFA = 14:1c9 + 16:1c9 + 17:1c9 + 18:1c9 + 18:1c11 + 20:1c11 + 22:1n-9;

PUFA = 18:2n-6 + 18:3n-6 + 18:3n-3 + 20:2n-6 + 20:3n-6 + 20:4n-6 + 20:3n-3 + 20:5n3 + 22:2n-6 + 22:5n-3 + 22:6n-3;

n-6PUFA = 18:2n-6 + 18:3n-6 + 20:2n-6 + 20:3n-6 + 20:4n-6 + 22:2n-6;

n-3PUFA = 18:3n-3 + 20:3n-3 + 20:5n-3 + 22:5n-3 + 22:6n-3.

Seleção Darwiniana e a Monitorização da Infestação por Varroa destructor em *Apis mellifera iberiensis*

Larissa Fonseca da Cunha^{1,2},
Ana Rita Lopes^{1,2},
Séverine Kotrschal³,
Delphine Panziera³,
Dirk De Graaf⁴,
Maria Alice Pinto^{1,2}

¹ CIMO, LA SusTEC, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253, Bragança, Portugal.

² Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, 85660-000, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil.

³ Biointeractions and Plant Health, Wageningen University & Research, Wageningen, 6708 PB, Wageningen, Países Baixos.

⁴ University of Ghent, 9000, Ghent, Bélgica.

*Autor correspondente: cunha.zootec@gmail.com

RESUMO

O *Varroa destructor* (varroa) é um ácaro ectoparasita e é o principal patógeno das colónias de abelha melífera, *Apis mellifera*, prejudicando a sua longevidade e produtividade. O comportamento higiénico das obreiras auxilia a diminuir a infestação, contudo, a eficácia varia. Em regiões do mundo, como nas Américas, onde nunca foram aplicados acaricidas, observam-se populações que desenvolveram uma resiliência natural ao parasita, populações com características semelhantes já foram encontradas na Europa. Uma das estratégias promissoras para potenciar esse processo consiste na implementação de programas de melhoramento genético baseados na Seleção Darwiniana (SD), através dela é possível obter colónias mais resistentes à varroa. A monitorização do nível de infestação das colónias é fundamental para o sucesso da SD, podendo ser realizada pelo método indireto de baixo impacto denominado queda natural. Este estudo visa avaliar o desempenho de diferentes colónias de *A. m. iberiensis* expostas à SD através da monitorização da infestação por varroa (tamanho da população de varroa na colónia) das colónias pelo método da queda natural. Foram analisadas 42 colónias de 20 famílias no segundo ano de exposição à SD, nos meses de maio, junho e julho de 2025. As varroas foram recolhidas em placas cromatográficas coladas no estrado sanitário por 72 h. Em seguida, realizou-se a contagem manual dos ácaros em laboratório. A infestação foi padronizada como média diária de queda de varroa por colmeia. A queda de varroas apresentou um aumento progressivo ao longo do período avaliado, com diferença significativa ($p < 0,05$) superior em julho em relação a maio. As maiores médias diárias de queda de varroas foram de 35,1 e 33,3 observadas em duas famílias, nove famílias não diferiram das demais, com médias entre 5,2 e 15 varroas/dia. Outras nove apresentaram as menores médias (0,6 a 3,9 varroas/dia). Dentro da população é possível observar a formação de três grupos, que sugerem variabilidade: resistentes (45%), intermédias (45%) e sensíveis (10%). Nas colónias sensíveis, as médias altas podem reflectir tanto a susceptibilidade quanto a eficácia do comportamento higiénico. As taxas de infestação observadas revelaram-se bastante reduzidas e evidenciam a necessidade de monitorização deste parâmetro. Embora diferenças familiares sejam evidentes, a avaliação individual é essencial para identificar os fenótipos resistentes, garantindo seleção genética eficaz e sustentável. Aliada à análise dos factores ambientais, a seleção natural continua favorece colónias resistentes e reduz o uso de químicos.

PALAVRAS-CHAVE

Seleção Darwiniana, queda natural, resiliência, variabilidade

ABSTRACT

Varroa destructor (varroa) is an ectoparasitic mite and is the main pathogen of honeybee colonies, *Apis mellifera*, damaging their longevity and productivity. The hygienic behaviour of worker bees helps to reduce infestation, but its effectiveness varies. In regions of the world, such as the Americas, where acaricides have never been used, populations have developed a natural resistance to the parasite, and populations with similar characteristics have also been found in Europe. One promising strategy to enhance this process is the implementation of genetic improvement programmes based on Darwinian Selection (DS), through which it is possible to obtain colonies that are more resistant to varroa. Monitoring the level of infestation in colonies is essential for the success of DS and can be carried out using the low-impact indirect method known as mite fall. This study aims to evaluate the performance of different colonies of *A. m. iberiensis* exposed to DS by monitoring varroa infestation (varroa population size in the colony) in the colonies using the natural fall method. Forty-two colonies from 20 families were analysed in the second year of exposure to SD, in May, June and July 2025. Varroa mites were collected on chromatographic plates glued to the sanitary tray for 72 hours. Further, the mites were counted manually in the laboratory. The infestation was standardized as the daily average number of varroa mites per hive. The number of varroa mites increased progressively over the period evaluated, with a significant difference ($p<0.05$) higher in July than in May. The highest daily averages of varroa mite falls were 35.1 and 33.3 observed in two colonies, nine colonies did not differ from the others, with averages between 5.2 and 15 varroa mites/day. Another nine had the lowest averages (0.6 to 3.9 varroa mites/day). Within the population, it is possible to observe the formation of three groups, which suggest variability: resistant (45%), intermediate (45%) and sensitive (10%). In sensitive colonies, high averages may reflect both susceptibility and the effectiveness of hygienic behaviour. The infestation rates observed proved to be quite low and highlight the need to monitor this parameter. Although family differences are evident, individual assessment is essential to identify resistant phenotypes, ensuring effective and sustainable genetic selection. Combined with the analysis of environmental factors, continuous natural selection favours resistant colonies and reduces the use of chemicals.

KEYWORDS

Darwinian Selection, mite fall, resilience, variability

INTRODUÇÃO

O *Varroa destructor*, chamado varroa, é um ácaro ectoparasita que se alimenta tanto da hemolinfa quanto das reservas de gorduras das pupas e abelhas adultas, e neste processo transmite diversos vírus causadores de doenças que limitam a longevidade e produtividade das abelhas. Originalmente, o varroa, na altura identificado como *Varroa jacobsoni*, parasitava a abelha asiática *Apis cerana*, quando migrou para a Europa e começou a parasitar as *Apis mellifera* selvagens praticamente dizimou as colónias, pois estas não haviam mecanismos para lidar com o varroa (Blacquièrre et al., 2019). A história co-evolutiva entre hospedeiro-parasita, *V. destructor*-*A. mellifera*, ainda é curta e prejudicada pelo uso de acaricidas químicos para o controlo da infestação nas colónias desde o princípio da percepção dos prejuízos causados pelo varroa. Desta forma, impedindo possíveis adaptações por parte das abelhas, enquanto os ácaros seguem mutando-se e tornando-se resistentes aos químicos utilizados (Blacquièrre et al., 2019). Compreender os mecanismos por trás da resistência ao varroa pode contribuir para a compreensão da relação hospedeiro-parasita e, assim, ajudar a prevenir perdas de colónias (Panziera et al., 2017).

O manejo convencional na apicultura comercial, em sua essência voltado para a maximização da produção, tende a limitar a seleção natural das abelhas. Sua gestão pode comprometer gravemente a saúde das abelhas de múltiplas formas (Locke, 2016; Neumann & Blacquièrre, 2017; Blacquièrre & Panziera, 2018). Dentre os fatores apícolas que regem a saúde das abelhas e que provavelmente interferem na seleção natural está o tratamento químico para doenças e parasitas (Neumann & Blacquièrre, 2017), onde se enquadra a reação do apicultor contra o varroa.

Como a seleção natural é o mecanismo-chave da evolução, ela permitirá que qualquer população de abelhas manejadas, independentemente do habitat e/ou background genético a adaptar-se a todos os fatores de stress, desde que a capacidade de lidar com o fator de stress tenha uma base genética, de modo que as características hereditárias possam mudar nesta população ao longo do tempo (Neumann & Blacquièrre, 2017). Sabe-se que populações de abelhas ocidentais (*Apis mellifera*) conseguem lidar com ácaros ectoparasitas que mudaram de hospedeiro (*Varroa destructor*) por meio da seleção natural (Moro et al., 2021).

Embora os mecanismos que sustentem a resistência à infestação por *V. destructor* sem tratamento ainda não sejam totalmente compreendidos (Mondet et al., 2020), propõe-se aproveitar a seleção natural darwiniana para a adaptação das abelhas a este novo parasita (Blacquièrre et al., 2019). O protocolo, chamado “Darwinian Black Bee Box”, aqui mencionado comumente como Seleção Darwiniana (SD), baseia-se nos princípios da evolução por seleção natural. O tema foi descrito detalhadamente pelos autores Blacquièrre et al. (2019), em suma, as colónias são sujeitas à infestação “natural” por varroa (por se tratar de um parasita comumente encontrado nas colónias) e mantidas sem tratamento. Preconiza-se que as colónias capazes de sobreviver e reproduzir-se com sucesso transmitem os seus genes para a próxima geração. Os alelos dos genes que codificam para características que contribuem para a sobrevivência aumentarão gradualmente em frequência, enquanto os alelos prejudiciais ou neutros se tornarão menos frequentes (Blacquièrre et al., 2019).

A monitorização de diversos parâmetros, tanto ambientais quanto das colónias, é essencial durante o período de seleção, para perceber como a evolução ocorre a nível fenotípico e como estes interferem/expressam a resistência (ou sensibilidade) das abelhas ao varroa. Dentre eles está a monitorização da infestação por varroa através do método de queda natural (tamanho da população de varroa na colónia), no qual coleta-se e conta-se os ácaros que caem naturalmente ao fundo da colmeia durante determinado período. É considerado um método direto e não invasivo para as abelhas, ideal para não interferir no desenvolvimento natural da colónia (De Miranda et al., 2013).

Isto posto, o presente trabalho faz parte do projeto mencionado por Blacquièrre et al. (2019) e traz um recorte de toda a análise relacionada ao trabalho em curso com a SD. Aqui, objetiva-se avaliar o desempenho de diferentes colónias de *A. m. iberiensis* expostas à SD através da monitorização da infestação por varroa.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho é um recorte do trabalho de seleção conduzido no apiário experimental localizado na aldeia de Pinelo, da vila de Vimioso, em Bragança, Portugal (41,64836° N, 6,54472° O). Este apiário foi montado exclusivamente para a condução do programa de melhoramento genético baseado no protocolo de Seleção Darwiniana (consultar Blaquièrre et al., 2019), que deu origem a este trabalho. O programa teve início no ano de 2024, com o preparo da população. A princípio, 25 colónias de *Apis mellifera iberiensis* geneticamente distintas (sem grau de parentesco) sobreviventes ao inverno anterior foram divididas em quatro novas, totalizando 100 colónias para o início da seleção. Após a divisão, estas receberam tratamento com ácido oxálico pulverizado, sendo a única vez durante todo o período de seleção estabelecido em protocolo (4 anos) em que foram tratadas. Assim, estas abelhas têm que lidar naturalmente com a pressão de seleção exercida pelo ácaro.

Para efeitos elucidativos sobre a metodologia aplicada, faz-se necessária a explanação de procedimentos realizados anteriormente ao período avaliado neste estudo. Além de estabelecer que mais nenhuma forma de controlo contra o *V. destructor* seja utilizada, além deste no primeiro verão, o protocolo preconiza que as colónias sejam alimentadas, tanto com xarope de açúcar quanto com pasta proteica, para evitar pressão de seleção adicional por falta de alimento.

O que implica em visitas periódicas ao apiário (no mínimo uma vez ao mês), ocasiões nas quais foram realizadas estimativas de tamanho de colónia, protocolo de queda natural e outras experiências não constantes neste trabalho, mas que fazem parte do protocolo estabelecido pelo programa.

No ano de 2025 foram realizadas coletas dos ácaros que caíram no fundo da colmeia pelo método de queda natural descrito a seguir. Foram monitorizadas 42 colónias, pertencentes a 20 famílias diferentes (as que iniciaram o processo de seleção em 2024). Em visita ao apiário, foram coladas placas cromatográficas no estrado sanitário de cada colmeia, de forma a ocupar todo o fundo, onde permaneceram por 72 h e foram recolhidas e identificadas em nova visita ao apiário. Posteriormente, realizou-se a contagem manual dos ácaros coletados em cada colmeia (devidamente identificadas) em laboratório. Este procedimento foi realizado nos meses de Maio, Junho e Julho, com ~ 30 dias de intervalo entre as coletas, a depender das condições meteorológicas favoráveis e disponibilidade de veículo da instituição para deslocamento até o apiário.

Os dados foram guardados em ficheiro Excel, onde anotou-se a quantidade total de ácaros contados e, em coluna adjacente, padronizou-se estes valores para média diária de queda de varroa (mites_day) para cada colónia. Para esta padronização, dividiu-se o número de ácaros contados por três assumindo o período de 72 h como três dias, uma vez que a métrica comumente avaliada na literatura é “varroas / dia”.

Os dados foram analisados utilizando modelos lineares mistos (Linear Mixed-Effects Models – LMM), de modo a considerar a estrutura hierárquica dos dados e não a independência das observações. O mês de amostragem e a família foram incluídos como efeitos fixos, enquanto a colónia foi incluída como efeito aleatório, de modo a considerar medidas repetidas ao longo do tempo. Esse processo permitiu avaliar simultaneamente a variação temporal da infestação e a variação associada a diferenças entre famílias. A significância dos efeitos fixos de mês e família foi avaliada por meio de testes de razão de verossimilhança, comparando modelos aninhados estimados por máxima verossimilhança, com e sem cada efeito de interesse. Adicionalmente, os coeficientes dos efeitos fixos foram avaliados por meio de testes t, com aproximação de graus de liberdade pelo método de Satterthwaite. Quando necessário, as variáveis resposta foram transformadas por meio de transformação logarítmica [$\log(x+1)$] para atender aos pressupostos de normalidade e homogeneidade das variâncias. A adequação dos modelos foi verificada por inspeção gráfica dos resíduos e dos valores ajustados. As comparações múltiplas entre níveis dos fatores mês e família foram realizadas a partir das médias marginais estimadas (estimated marginal means – emmeans), com ajuste para múltiplas comparações, permitindo avaliar diferenças entre famílias dentro de cada mês e diferenças temporais dentro de cada família. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software RStudio (versão 2025.09.1+401).

O ensaio foi realizado no âmbito de um projeto de investigação europeu focado no melhoramento genético e na resiliência da *Apis mellifera*. Embora a legislação nacional (Decreto-Lei n.º 113/2013) isente o uso de insetos de aprovação ética obrigatória, o protocolo experimental seguiu os princípios éticos de sustentabilidade e conservação. A suspensão de tratamentos químicos contra *Varroa destructor* foi estritamente necessária para a identificação de fenótipos resistentes através de seleção natural, visando a redução a longo prazo da dependência de acaricidas e a promoção da saúde das populações de abelhas. O apiário experimental foi instalado a um raio de 3 km de distância de qualquer apiário registrado, categorizando-o como isolado, ainda assim, é monitorizado para minimizar riscos sanitários para possíveis apiários vizinhos.

RESULTADOS

A queda natural de *Varroa destructor* apresentou um aumento significativo ao longo do período de amostragem ($p < 0,05$), evidenciando um efeito temporal consistente. As médias marginais estimadas indicaram valores crescentes significativamente superior em julho em comparação com maio, enquanto junho apresentou valores intermédios, não diferindo estatisticamente de ambos. Este padrão foi observado de forma consistente em todas as famílias analisadas, indicando uma tendência geral de aumento da infestação ao longo do tempo. Em maio, a média diária de queda de varroa foi de $6,38 \pm 4,73$ varroas/dia (IC 95%; CV = 81,2%), aumentando para $8,33 \pm 4,73$ varroas/dia em junho (IC 95%; CV = 62,3%) e atingindo $13,31 \pm 4,73$ varroas/dia em julho (IC 95%; CV = 38,9%).

Para além do efeito temporal, foram detectadas diferenças significativas entre famílias dentro de cada mês de amostragem ($p < 0,05$), revelando elevada variabilidade na resposta das colónias à infestação por varroa. Duas famílias apresentaram médias diárias de queda de varroa consistentemente elevadas ao longo dos três meses, destacando-se duas famílias com 35,1 e 33,3 varroas/dia no mês de julho. Em contraste, um conjunto distinto de nove famílias apresentou valores persistentemente baixos de queda natural, com médias entre 0,6 e 3,9 varroas/dia, independentemente do mês. Entre estes extremos, observou-se um grupo intermédio de nove famílias cujas médias ajustadas variaram entre aproximadamente 5,2 e 15 varroas/dia, sem diferenças estatísticas claras em relação às famílias de maior ou menor infestação em determinados meses. A manutenção deste padrão ao longo do tempo sugere que as diferenças observadas entre famílias não são pontuais, mas refletem respostas consistentes à pressão do parasita.

Os coeficientes de variação foram elevados nas famílias com maiores médias de infestação, refletindo maior heterogeneidade, e reduzidos nas famílias com baixos níveis de queda natural, indicando maior estabilidade temporal. Famílias com médias elevadas de queda natural em maio mantiveram valores superiores também em junho e julho, enquanto famílias com médias reduzidas permaneceram consistentemente no grupo de menor infestação ao longo de todo o período avaliado. Não foram observadas inversões marcantes de ranking entre famílias ao longo dos meses.

Com base na distribuição das médias marginais estimadas e nas comparações estatísticas entre famílias, foi possível identificar a formação de três grupos fenotípicos dentro da população avaliada: famílias com baixa infestação (resistentes), famílias com infestação intermédia e famílias com infestação elevada (sensíveis). Aproximadamente 45% das famílias foram classificadas como resistentes, 45% como intermédias e 10% como sensíveis.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos a partir do modelo linear misto confirmam que a dinâmica temporal desempenha um papel fundamental na infestação por *Varroa destructor*, com aumento progressivo da queda natural ao longo da estação ativa das colónias. Este padrão está de acordo com a biologia do parasita, cujo crescimento populacional é favorecido pela maior disponibilidade de cria e por condições ambientais mais favoráveis durante os meses de verão. A diferença significativa observada entre maio e julho confirma a importância do fator temporal na avaliação da infestação e reforça a necessidade de monitorização contínua ao longo da estação apícola, idealmente uma vez ao mês. Desta forma, será possível identificar os picos de infestação de cada apiário e, assim, definir as épocas de maior atenção e as estratégias de intervenção nas colmeias.

Para além do efeito do tempo, as diferenças consistentes observadas entre famílias constituem um dos principais achados deste estudo. A persistência de valores elevados ou reduzidos de queda de varroa ao longo dos meses sugere que a resposta das colónias à infestação possui uma base genética, compatível com os princípios da Seleção Darwiniana. Em sistemas submetidos à ausência de tratamentos químicos, como o aqui avaliado, colónias menos capazes de lidar com a pressão do parasita tendem a apresentar maior infestação ou colapsar, enquanto colónias mais resilientes contribuem de forma desproporcional para a geração seguinte.

As famílias classificadas como resistentes apresentaram níveis consistentemente baixos de queda natural, o que pode refletir uma combinação de mecanismos, tais como limitação da reprodução do ácaro, comportamentos higiénicos eficazes ou maior tolerância fisiológica ao parasitismo. Por outro lado, as famílias classificadas como sensíveis exibiram médias elevadas de queda de varroa. É importante salientar que valores altos de queda natural não indicam necessariamente maior suscetibilidade de forma isolada, podendo também refletir elevada eficácia do comportamento higiénico, com remoção ativa de ácaros das abelhas e da cria. Assim, a interpretação deste parâmetro deve ser realizada com cautela e, idealmente, integrada a outros indicadores de infestação e desempenho da colónia, como tamanho da colónia e ensaios que avaliem a expressão de comportamentos associados à resistência ao varroa como Varroa Sensitive Hygiene, Recapping, Grooming e Mite Population Growth (Mondet et al., 2020).

O grupo intermédio, que representou uma proporção substancial da população, evidencia a ampla variabilidade fenotípica existente no apiário experimental. Este grupo constitui um reservatório importante de variabilidade genética, sobre o qual a seleção natural pode atuar de forma gradual ao longo das gerações, favorecendo características associadas à resiliência.

As taxas de infestação observadas neste estudo foram, de modo geral, reduzidas quando comparadas a valores frequentemente reportados em sistemas manejados com tratamentos químicos, reforçando a viabilidade da Seleção Darwiniana como estratégia de longo prazo. No entanto, embora as diferenças familiares sejam evidentes, os resultados demonstram que a avaliação ao nível individual das colónias permanece essencial para a identificação precisa de fenótipos resistentes. A integração da monitorização da queda natural com outros parâmetros biológicos (comportamentos e tamanho da colónia) e ambientais (temperatura interna da colmeia e do apiário) (Mondet et al., 2020), permitirá uma seleção genética mais robusta, sustentável e alinhada com os princípios evolutivos que regem a interação hospedeiro-parasita.

CONCLUSÃO

Este estudo reafirma a importância central da monitorização contínua da queda natural de ácaros como ferramenta prática na implementação da Seleção Darwiniana em *Apis mellifera iberiensis*. Este método permite a identificação de fenótipos possivelmente sensíveis/resistentes ao *Varroa destructor*, além disso, esta abordagem permite que a pressão de seleção natural atue de forma dirigida, promovendo a sobrevivência das colónias mais adaptadas. Em suma, a monitorização da infestação durante as estações do ano revela-se indispensável para consolidar estratégias de seleção sustentáveis, garantindo a saúde das abelhas e a viabilidade da apicultura baseada em princípios evolutivos e de baixa dependência de químicos.

FINANCIAMENTO

Este trabalho foi realizado no âmbito do projeto BETTER-B – Improving bees' resilience to stressors by restoring harmony and balance”, financiado pela União Europeia, pelo Swiss State Secretariat for Education, Research and Innovation (SERI) e UK Research and Innovation (UKRI), sob o UK government's Horizon Europe funding guarantee (grant number 10068544).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Blacqui re, T., Boot, W., Calis, J., Moro, A., Neumann, P., & Panziera, D. (2019). Darwinian black box selection for resistance to settled invasive Varroa destructor parasites in honey bees. *Biological Invasions*, 21(8), 2519–2528. <https://doi.org/10.1007/s10530-019-02001-0>

De Miranda, J. R., Bailey, L., Ball, B. v., Blanchard, P., Budge, G. E., Chejanovsky, N., Chen, Y. P., Gauthier, L., Genersch, E., de Graaf, D. C., Rib  re, M., Ryabov, E., de Smet, L., & van der Steen, J. J. M. (2013). Standard methods for virus research in *Apis mellifera*. In *Journal of Apicultural Research* (Vol. 52, Issue 4). <https://doi.org/10.3896/IBRA.152.4.22>

Blacqui re, T., & Panziera, D. (2018). A Plea for Use of Honey Bees' Natural Resilience in Beekeeping. *Bee World*, 95(2), 34–38. <https://doi.org/10.1080/0005772x.2018.1430999>

Locke, B. (2016). Natural Varroa mite-surviving *Apis mellifera* honeybee populations. In *Apidologie* (Vol. 47, Issue 3, pp. 467–482). Springer-Verlag France. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0412-8>

Mondet, F., Beaurepaire, A., McAfee, A., Locke, B., Alaux, C., Blanchard, S., Danka, B., & le Conte, Y. (2020). Honey bee survival mechanisms against the parasite Varroa destructor: a systematic review of phenotypic and genomic research efforts. In *International Journal for Parasitology* (Vol. 50, Issues 6–7, pp. 433–447). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2020.03.005>

Moro, A., Blacqui re, T., Panziera, D., Dietemann, V., & Neumann, P. (2021). Host-parasite co-evolution in real-time: Changes in honey bee resistance mechanisms and mite reproductive strategies. *Insects*, 12(2), 1–13. <https://doi.org/10.3390/insects12020120>

Neumann, P., & Blacqui re, T. (2017). The Darwin cure for apiculture? Natural selection and managed honeybee health. *Evolutionary Applications*, 10(3), 226–230. <https://doi.org/10.1111/eva.12448>

Panziera, D., van Langevelde, F., & Blacqui re, T. (2017). La higiene sensible a Varroa contribuye a la resistencia a varroa naturalmente seleccionada en abejas mel feras. *Journal of Apicultural Research*, 56(5), 635–642. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1351860>.

Potencialidades da Agricultura de Precisão para a identificação e controlo da flora tóxica e agressiva em pastagens no Montado

João Horta Marques^{12*},
Anabela Belo¹,
Emanuel Carreira¹,
David Lloberas²³,
Paulo Forte⁴,
Teresa Vasconcelos⁴,
João Serrano¹

1 MED – Instituto Mediterrâneo para a Agricultura, Ambiente e Desenvolvimento & CHANGE, Universidade de Évora, Évora, Portugal;

2 CEF – Centro de Estudos Florestais, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal;

3 INIAV – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária I.P., Quinta do Marquês, Av. da República, Oeiras 2780-159, Portugal;

4 DISA/NEV – Divisão de Infraestruturas Segurança e Ambiente/Núcleo de Espaços Verdes, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal.

Autor correspondente: jplhortamarques@gmail.com

RESUMO

A Agricultura de Precisão (AP) permite auxiliar o gestor pecuário no processo de tomada de decisão. O ciclo da AP, de forma genérica, inclui 4 fases: monitorização, interpretação, definição de zonas homogéneas de gestão (através de mapas) e gestão diferenciada. O Montado é um sistema agro-silvo-pastoril muito complexo, característico da região Mediterrânica, constituído por animais (ruminantes ou suínos), árvores (sobreiros e/ou azinheiras), e pastagens (naturais ou semeadas) que se desenvolvem normalmente em solos pouco férteis, delgados e ácidos. O conhecimento da sua flora natural é crucial para a gestão do pastoreio. Os animais em pastoreio apresentam comportamentos diferenciados, podendo ingerir somente as espécies mais nutritivas, deixando as restantes (pastoreio selectivo) ou ingerir espécies infestantes da pastagem que podem afectar a sua saúde, diminuindo o bem-estar animal. Existem espécies pratenses, agressivas, tóxicas e medicinais no Montado. Este estudo tem como intuito apresentar a distribuição espacial de espécies indicadoras da degradação da pastagem. O ensaio decorreu em Cambissolos, na Herdade Experimental da Mitra (Universidade de Évora), em duas parcelas de Montado de azinho (área total de cerca de 20 ha), pastoreadas por bovinos (raça alentejana e raça mertolenga, com encabeçamento de 0,6 CN), em pastoreio rotacional. Foram inventariadas as espécies botânicas existentes em 24 zonas de amostragem (12 debaixo da influência da copa das árvores e 12 fora), numa pastagem natural biodiversa, no ano de 2020/21. As espécies identificadas foram classificadas em agressivas, tóxicas, infestantes, pratenses e medicinais, permitindo a elaboração de mapas das zonas com a distribuição das espécies tóxicas e agressivas mais frequentes. Foi utilizado o programa Arcmap 10.8.2 e o método de interpolação IDW (“Inverse Distance Weighting”). Contabilizaram-se 62 espécies botânicas. Ambas as parcelas apresentaram todos os grupos de classificação. Os resultados demonstram elevada heterogeneidade intra-parcelar. Zonas sob influência da copa das árvores apresentaram maior proporção de espécies botânicas nutritivas ($40,58 \pm 15,87$ %) e menos infestantes ($36,52 \pm 13,88$ %), em relação a áreas fora da influência da copa das árvores ($50,75 \pm 13,29$ % de espécies nutritivas e $72,83 \pm 14,3$ % de espécies infestantes). O controlo das zonas com maior cobertura de infestantes (tóxicas ou agressivas) contribuirá para o bem-estar animal e sustentabilidade do Montado. Demonstra-se neste trabalho o potencial da AP para o controlo de infestantes no Montado, de forma directa (herbicida, monda, mobilização, corta-mato) ou indirecta (fertilização), favorecendo as condições ecológicas à instalação e desenvolvimento de espécies benéficas da pastagem.

PALAVRAS-CHAVE

bem-estar animal, infestante, nutrição, pastoreio selectivo, zootecnia de precisão

ABSTRACT

Precision Agriculture (PA) provides essential support for livestock managers in the decision-making process. Generally, the PA cycle encompasses four key stages: monitoring, interpretation, the definition of homogeneous management zones (through mapping), and site-specific management. The Montado is a highly complex agro-silvo-pastoral system, characteristic of the Mediterranean region, consisting of animals (ruminants or pigs), trees (cork and/or holm oaks), and pastures (natural or sown) that typically develop on thin, acidic, and low-fertility soils. In this context, detailed knowledge of the natural flora is crucial for effective grazing management. Grazing animals exhibit differentiated behaviors; they may practice selective grazing, ingesting only the most nutritious species, or consume weed species that can negatively affect their health and overall animal welfare. The Montado hosts a variety of botanical groups, including forage, aggressive, toxic, and medicinal species.

This study aims to present the spatial distribution of indicator species of pasture degradation. The trial was conducted on Cambisols at the Mitra Experimental Farm (University of Évora), in two holm oak Montado plots (total area of approximately 20 ha), grazed by Alentejana and Mertolenga cattle breeds, with a stocking rate of 0.6 Normal Head (NH) under a rotational grazing system. Botanical species were inventoried across 24 sampling zones (12 under the tree canopy influence and 12 outside) in a biodiverse natural pasture during the 2020/21 season. The identified species were classified as aggressive, toxic, weeds, forage, or medicinal, enabling the creation of spatial distribution maps for the most frequent toxic and aggressive species. Data analysis was performed using ArcMap 10.8.2 software and the Inverse Distance Weighting (IDW) interpolation method.

A total of 62 botanical species were recorded, and both plots featured all classification groups. The results demonstrate high intra-plot heterogeneity. Areas under the tree canopy showed a higher proportion of nutritious botanical species ($40,58 \pm 15,87$ %) and fewer weeds ($36,52 \pm 13,88$ %) compared to areas outside the canopy ($50,75 \pm 13,29$ % nutritious species and $72,83 \pm 14,3$ % of weeds). The monitoring and control of zones with higher weed coverage (toxic or aggressive) are vital for enhancing animal welfare and the long-term sustainability of the Montado. This work demonstrates the potential of PA for weed control, whether through direct interventions (herbicide, weeding, tillage, or brush-cutting) or indirect methods (fertilization), favoring the ecological conditions required for the establishment and development of beneficial pasture species.

KEYWORDS

Animal welfare, weed, nutrition, selective grazing, precision livestock farming.

INTRODUÇÃO

Nos últimos 40 anos a área de pastagens em Portugal triplicou (ICNF, 2019 e Horta Marques, 2026). Um dos sistemas onde as pastagens apresenta maior expressividade é o Montado. Este é um sistema agro-silvo-pastoril mediterrânico, constituído por animais (ruminantes ou suínos), árvores (sobreiros e/ou azinheiras), e forragens ou pastagens (naturais ou semeadas) que se desenvolvem normalmente em solos pouco férteis, delgados e ácidos (Carvalho, 2018; Serrano et al., 2021). Dados os elevados elementos que compõem o sistema Montado e seus efeitos interactivos, a variabilidade neste sistema no interior da parcela (variabilidade intra-parcelar) pode ser muito elevada. A Agricultura de Precisão (AP) permite auxiliar o gestor pecuário no processo de tomada de decisão (Peça, 2005), quantificando a variabilidade intra-parcelar. Deste modo, a AP tem sido estudada no Montado desde o princípio do século XXI, nomeadamente desde os ensaios de Gonçalves et al. (2005), Peça et al. (2005) e Serrano et al. (2005). Isto acontece porque o ciclo da AP, de forma genérica, inclui 4 fases: monitorização, interpretação, definição de zonas homogéneas de gestão (através de mapas), permitindo o seu seguimento a gestão diferenciada (Peça e Serrano, 2006 Serrano et al., 2014a, 2014b), deste sistema holístico (Serrano, 2024), o que aumenta a eficiência dos factores de produção, incrementando a sustentabilidade e diminuindo as externalidades negativas. Apesar disso, somente muito recentemente os estudos de AP têm em conta a composição florística da pastagem. O seu conhecimento é crucial para auxiliar o gestor do Montado na tomada de decisões (tempo de pastoreio, encabeçamento e correcções).

Os animais em pastoreio apresentam comportamentos diferenciados, podendo ingerir somente as espécies mais nutritivas, deixando as restantes (pastoreio selectivo, Figura 1) ou ingerir espécies infestantes da pastagem (Figura 2 e Figura 3) que podem afectar a sua saúde, diminuindo o bem-estar-animal (Moreira, 2002; Efe Serrano, 2006). Existem espécies pratenses, agressivas, tóxicas e medicinais no Montado. Este estudo tem como intuito apresentar a distribuição espacial de espécies indicadoras da degradação da pastagem. Esta é a primeira fase do ciclo da Agricultura de Precisão, cujo seguimento permite aumentar a eficiência da gestão, diminuindo também as externalidades negativas para o ecossistema. Espécies indicadoras da pastagem podem ser definidas como plantas que impedem os animais que as pastoreiam de expressarem o máximo do seu potencial genético produtivo, para iguais condições ambientais. Isso diminui a sustentabilidade económica e o bem-estar animal. A questão das espécies infestantes em pastagens, em termos globais tem tido estudos muito escassos (Harker et al., 2000). Este estudo visa também aumentar o conhecimento em relação às infestantes no Montado. Desconhecem-se as perdas de rendimento em Portugal por degradação da composição florística das pastagens, mas nos EUA esta era a principal causa, provocando uma diminuição significativa no rendimento dos animais (DiTomaso, 2000).

Uma planta infestante pode ser definida como uma planta fora do sítio (António Mexia, comunicação oral). Isto acontece porque uma planta pode afastar o potencial produtivo do potencial genético máximo de uma cultura, tornando-se infestante mas a mesma espécie pode ser a cultura noutro sistema produtivo. Por exemplo, a espécie *Rumex acetosa* L. é uma cultura em certos sistemas rurais do Brasil, usada para alimentação humana (Silva et al., 2018) e em Portugal é uma infestante típica da pastagem do Montado (Figura 3). Esta espécie contém ácido oxálico, tal como a azedinha (*Oxalis acetosella* L.) e todas as desse género, o que inibe a absorção de cálcio pelo organismo, mas que, devido ao sabor agradável são apetecíveis pelos animais (Teixeira, 1869). Quando ingerida em elevadas quantidades é necessário o seu tratamento para evitar a debilidade do animal (Teixeira, 1869). Em galinhas, por exemplo, a casca dos ovos fica mais fina, podendo partir-se com maior facilidade após a ingestão de *Oxalis* spp.. Com maior toxicidade e espontânea em Montado surge a *Urginea maritima* (Figura 2). Esta é uma das espécies mais venenosas das pastagens mediterrânicas (Villax, 1963).

Genericamente, segundo Efe Serrano (2006), quando se usa o termo “infestante” do Montado ou, sobretudo “degradação da pastagem” as espécies mais comuns referidas são as arbustivas, como as Cistaceae, nomeadamente as estevas (*Cistus ladanifer* L.) e os sargaços, ou mesmo os tojos (*Ulex* spp.) e giestas (*Genista* spp.). No entanto, estas espécies são usadas há séculos como complemento da alimentação animal (Mendes, 1893 e 1894) e embora não sejam muito nutritivas não originam directamente doenças, ao contrário das tóxicas.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio decorreu em Cambissolos, na Herdade Experimental da Mitra (Universidade de Évora), em duas parcelas de Montado de azinho (área total de cerca de 20 ha), pastoreadas por bovinos (raça alentejana e raça mertolenga, com encabeçamento de 0,6 CN), em pastoreio rotacional (Figura 4). Foram inventariadas as espécies botânicas existentes em 24 zonas de amostragem (12 debaixo da copa das árvores e 12 fora da influência da copa das árvores, Figura 5), numa pastagem natural biodiversa, no ano de 2020/21. Todos os pontos foram georreferenciados com tecnologia GNSS (Global Navigation Satellite System).

A parcela Mitra A foi pastoreada durante um período mais longo que a parcela Mitra B (Figura 4). Nesta última, no final do ciclo da pastagem e após algum período de exclusão de pastoreio, a erva é cortada para forragem. Os animais permanecerem mais tempo na parcela Mitra A, sendo a parcela B exclusivamente pastoreada durante o mês de Março, retornando os animais à parcela A. Foram ainda monitorizadas as preferências de pastoreio através de colares com tecnologia GNSS colocados em animais. Esses valores encontram-se em Serrano et al. (2023). O pastoreio foi rotacional porque a entrada e saída entre parcelas por parte dos animais era em datas estipuladas pelos gestores da Herdade Experimental da Mitra (e não em função da disponibilidades de pastagem, como acontece com o pastoreio diferido).

As espécies identificadas foram classificadas em agressivas, tóxicas, infestantes, pratenses e medicinais (Tabela 1), permitindo a elaboração de mapas das zonas com a distribuição das espécies tóxicas e agressivas mais frequentes. A classificação das espécies nas referidas classes baseou-se nas seguintes obras: Teixeira (1869), Pereira Coutinho (1877), Carvalho e Vasconcellos e Feio (1949), Seccion de Plantas Forrajeras y Pratenses (1957), Carvalho e Vasconcellos (1962), Villax (1963), Abreu et al. (2000), Vasconcelos et al. (2000 e 2021), Harrington et al. (2006) e Monteiro et al. (2014).

Foi utilizado o programa Arcmap 10.8.2 e o método de interpolação IDW (“Inverse Distance Weighting”) para a redacção dos mapas.

Em termos climáticos, houve algumas diferenças em relação ao trinténio (1994 – 2024, Figura 6) face ao ano de estudo (2020/21, Figura 7), nomeadamente na precipitação, sobretudo nos meses de Outubro, Fevereiro e Março.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Contabilizaram-se 62 espécies botânicas (Tabela 1). Ambas as parcelas apresentam todos os grupos de classificação (Figura 8 a Figura 13). Os resultados demonstram elevada heterogeneidade intra-parcelar. Zonas sob influência da copa das árvores apresentaram maior proporção de espécies botânicas nutritivas ($40,58 \pm 15,87$ % de cobertura do solo) e menos infestantes ($36,52 \pm 13,88$ % de cobertura do solo), em relação a áreas fora da influência da copa das árvores ($50,75 \pm 13,29$ % de coberto com espécies nutritivas e $72,83 \pm 14,3$ % de coberto com espécies infestantes).

Verificou-se elevado coeficiente de variação, sobretudo nas zonas DCA. Variando desde 92% na cobertura do solo com espécies tóxicas nas zonas DCA a 32% na cobertura do solo com espécies pratenses em zonas FCA.

A classificação efectuada não é linear. Algumas plantas consideradas tóxicas (Tabela 1 e Figura 8) não o são para alguns animais e vice-versa. Por exemplo alguns autores consideram que a *Dactylis glomerata* não é nutritiva (Stählin e Skirde, 1986) mas no presente estudo foi considerada.

Das espécies pratenses (Tabela 1 e Figura 11) mais produtivas de pastagens mediterrâneas apenas uma foi inventariada e apenas numa área de amostragem. Trata-se, precisamente, da *Dactylis glomerata* (Rivas Goday e Gelabert, 1963). Ainda assim a maioria das espécies inventariadas é típica de ecossistemas mediterrâneos (*Fabaceae* e *Poaceae*) embora não sejam as mais produtivas.

A espécie *Plantago lanceolata* (medicinal, Tabela 1 e Figura 12) foi a que se aproximou mais dos valores de Hector et al. (1999), seguida do *Rumex acetosa* (tóxica) e *Dactylis glomerata* (pratense). A existência de espécies de todos estes grupos sugere que as pastagens possuem, em termos gerais, infestantes e o que parece variar é a proporção de cada grupo e as espécies que o compõem. A par disso, no presente estudo, também variou a distribuição intra-parcelar de cada grupo.

Os nossos resultados diferem dos de Serrano et al. (2018) em condições edafo-climáticas idênticas mas naquele estudo com pastoreio permanente de ovinos, em que, por exemplo, a espécie dominante era o *Erodium moschatium* (tóxica) que não foi identificada sequer nas áreas do nosso estudo, o que pode ser devido às espécies animais de pastoreio, abrindo boas perspectivas de que um pastoreio holístico (com várias espécies animais numa mesma parcela, mas em períodos temporais diferentes), podendo diminuir a cobertura e o tipo de infestação. No estudo de Serrano et al. (2018), a cobertura de *Echium sp.* (tóxica) foi residual enquanto que no nosso estudo era a espécie tóxica dominante, variando também a cobertura de outras espécies como *Plantago* (medicinal) e *Rumex* (tóxica), o que corrobora com esta hipótese. Estas diferenças são devidas à conjugação de vários factores (Mohler et al., 2021). Por exemplo, a altura da entrada dos animais nas parcelas, mostrou-se fundamental nos estudos de Monks et al. (2008) e no de Mills et al. (2008). No entanto, pensa-se que nas condições do Montado os seguintes factores são os mais determinantes para a distribuição espacial das espécies botânicas que compõem as pastagens e, consequente, das infestantes das pastagens: tipo de pastoreio, espécie animal, comportamento climático do ano agrícola, cobertura e distribuição arbórea, variações espaciais no solo, banco de sementes e efeitos alelopáticos.

Ainda que em termos gerais parece não se ter verificado a diferenciação de distribuição da flora obtida por Vasconcelos et al. (1993), a nível de parâmetros do solo (textura e pH) em pomares de maceiras, diferenças subtis na fertilidade do solo podem estar na origem dos resultados encontrados sendo fundamental estudos que relacionem os dados por nós obtidos com a fertilidade do solo. Edwards et al. (1993) detectaram diferenças ao nível do azoto do solo, em pastoreio com ovinos. Watson et al. (2026) encontraram diferenças devido ao nível do fósforo, associadas também ao tipo de pastoreio e sistema de produção (biológico vs integrado). No estudo de Díaz de Otálora et al. (2021) as diferenças foram devidas à duração do pastoreio. Apesar de tudo, os referidos estudos abordam apenas componentes específicas da pastagem e do pastoreio. Deste modo, estudos que relacionem os diferentes sub-sistemas que compõem o ecossistema Montado são escassos (Carreira, 2024), ainda que se pensa serem necessários ensaios de longa duração, em parcelas permanentes para a obtenção de resultados credíveis, de modo a auxiliar o gestor agro-pecuário. A Agricultura de Precisão pode contribuir para atenuar este problema uma vez que se baseia no tratamento de dados ao longo de vários anos e análise contínua das decisões tomadas e suas consequências.

É possível que o tipo de solo esteja mais associado a certas espécies pois, em vinha, em condições semelhantes aos do nosso estudo, no Alentejo, também foi detectada uma elevada cobertura de *Echium plantagineum* (Sousa et al., 2009). A isto, no nosso estudo, ainda acresce o pastoreio selectivo. Isto é, tratando-se de uma espécie tóxica os animais evitam-na. Consequentemente, se não for controlada, a sua cobertura aumenta ao longo do tempo. A título de exemplo, certas espécies como as da família *Asteraceae* (Compostas), a que pertencem, sobretudo, espécies agressivas, como os cardos, uma única flor pode produzir 60 mil sementes (Bivar, 1936). Deste modo, haverá sempre sementes no solo, pelo que a estratégia de controlo mais eficaz deve ser no intuito de evitar a sua emergência, criando condições para a germinação e rápida emergência de espécies pratenses como as *Fabaceae* (leguminosas) e *Poaceae* (gramíneas) em detrimento das condições propícias às tóxicas e agressivas, por exemplo, ensombrando-as.

Ao referido, acresce ainda o facto de que a pastagem deve ser analisada na totalidade. Isto é, mesmo espécies pratenses como os trevos (*Trifolium*) podem ser tóxicas em certas fases do seu ciclo para alguns animais no Montado, sobretudo quando estes são jovens. No entanto, esta toxicidade é evitada com o aumento da riqueza da composição florística que compõem a pastagem (Faria, 1887). O facto das pastagens do Montado serem biodiversas pode ser determinante para evitar patologias associadas ao pastoreio. Ainda assim, a referida biodiversidade pratense não evitou a elevada cobertura de infestantes da parcela Mitra A, contribuindo para a degradação da pastagem naquela parcela que foi a parcela onde os animais permaneceram mais tempo o que é indício de pastoreio selectivo. Para o conhecimento dos hábitos de pastoreio e averiguar o seu impacto na qualidade da pastagem, podem ser colocadas coleiras com tecnologia GNSS, permitindo a georreferenciação animal, entrando-se, assim, no domínio da Zootecnia de Precisão (Sales-Baptista et al., 2016).

Este estudo, tal como outros como o de Velez et al. (1994) ficou circunscrito ao comportamento climático do ano em que foi efectuado o inventário florístico, embora tenha sido um ano com comportamento idêntico à média climática, excepto na Precipitação, sobretudo outonal e primaveril. Para atenuar a influência do ano climático, Velez et al. (1994), entre muitos outros autores como Mills et al. (2008) e, mais recentemente, Watson et al. (2026), indicam a necessidade do alargamento deste tipo de ensaios a um maior número de anos e de tipo de solos.

Perspectiva-se que o controlo das zonas com maior cobertura de infestantes (tóxicas ou agressivas) contribuirá para o bem-estar animal e sustentabilidade do Montado.

Demonstra-se neste trabalho o potencial da AP para o mapeamento da distribuição espacial de infestantes no Montado. Seguindo as fases do ciclo de AP, no futuro deve ser efectuado o seu controlo forma directa (herbicida, monda, mobilização, corta-mato) ou indirecta (fertilização), favorecendo as condições ecológicas à instalação e desenvolvimento de espécies benéficas da pastagem. Tradicionalmente, o controlo das espécies prejudiciais às pastagens era feito de modo químico (Willard; 1978; Stählin e Skirde, 1986) ou mecânico (Harker et al., 2000). No entanto, dada a complexidade do sistema Montado e das externalidades negativas que essas operações comportam, devem ser implementadas outras estratégias de controlo, por exemplo, através da melhoria das funções do solo nas zonas mais críticas e do pastoreio holístico. A AP constitui uma ferramenta que o auxilia e, no caso de não haver outra alternativa ao controlo mecânico ou químico, a AP permite limitar a operação cultural exclusivamente à zona onde esta é necessária, aumentando a eficiência da gestão. Uma forma adicional mas complementar é a compreensão dos hábitos de pastoreio para que o manejo animal possa ser melhorado.

Finalmente, verificou-se que a bibliografia existente sobre o estudo de espécies infestantes em pastagens permanentes é muito escassa. Deste modo é aconselhável o aumento deste tipo de estudos dado o papel fundamental das pastagens na economia portuguesa. O subsistema florestal do Montado também não foi abordado no presente estudo, o que deverá ser de motivação para um trabalho futuro, de modo a relacionar todos os elementos que compõe o sistema Montado.

CONCLUSÃO

Foi detectada uma elevada cobertura de espécies infestantes em detrimento de espécies nutritivas da pastagem em Montado. A degradação da pastagem foi maior na parcela onde os animais permaneceram mais tempo o que é indício de pastoreio selectivo. A Agricultura de Precisão através do mapeamento do solo, associado ao conhecimento da composição florísticas e os efeitos da sua ingestão permite auxiliar o gestor do Montado. Também a Zootecnia de Precisão, nomeadamente com o estudo georreferenciado dos hábitos de pastoreio é fundamental em parcelas com elevada dimensão, o que é típico no Montado. Deste modo, o conhecimento de especialistas em cada área do Montado, nomeadamente Engenheiros Zootécnicos, Agrónomos e Silvicultores, é fundamental para a tomada de decisão quotidiana do gestor do Montado. É aconselhável o aumento deste tipo de estudos, com sinergismos entre especialistas, dado o aumento da área de pastagens em Portugal.

AGRADECIMENTOS

Ao projeto “GO-Fósforo: Viabilização de pastagens semeadas biodiversas através da otimização da fertilização fosfatada”, PDR2020-101-FEADER-030693.

À Professora M^a Odete Torres (ISA) pela disponibilidade imediata em identificar as infestantes da pastagem e preocupação em relação às espécies mais tóxicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, J., Bruno-Soares, A. e Calouro, F. (2000). Intake and nutritive value of mediterranean forages & diets: 20 years of experimental data. ISApres, 146 pp.
- Bivar, L. (1936). Apontamentos de Agricultura Geral: segundo as lições do professor António de Souza da Câmara, Instituto Superior de Agronomia, 1935 – 1936, 293 pp.
- Carreira, E. (2024). Intensificação sustentável da produção de ovinos no Montado: estudo da interação entre a produtividade de pastagens naturais e a gestão dinâmica do pastoreio. Universidade de Évora/Universidade do Algarve, Évora, 158 pp.
- Carvalho, M. (2018). O papel da pastagem na recuperação do solo no Montado, Revista de Pastagens e Forragens, Vol. 35 – 38, Sociedade Portuguesa de Pastagens e Forragens, Elvas, 1-21.
- Carvalho e Vasconcellos, J. (1962). Ervas forrageiras. Serviço de informação agrícola, Direcção Geral dos Serviços Agrícolas, Lisboa, 182 pp. (+ anexos).
- Carvalho e Vasconcellos, J. e Feio, F. (1949). Plantas medicinais e aromáticas (elementos para o seu estudo). Série: estudos e informação técnica, Direcção Geral dos Serviços Agrícolas, Lisboa, 200 pp.
- Díaz de Otálora, X., L. Epelde, J. Arranz, C. Garbisu, R. Ruiz e N. Mandaluniz (2021). Regenerative rotational grazing management of dairy sheep increases springtime grass production and topsoil carbon storage. Ecological Indicators 125, 107484, 1-11.
- DiTomaso, J. M. (2000). Invasive weeds in rangelands: species, impacts, and management. Weed science, 48(2), 255-265.
- Edwards, G.R., Lucas, R.J. e Johnston, M.R. (1993). Grazing preference for pasture species by sheep is affected by endophyte and nitrogen fertility. Proceedings of the New Zealand Grassland Association, 55, 137-141.
- Efe Serrano, J. (2006). Pastagens do Alentejo: bases técnicas sobre caracterização, pastoreio e melhoramento. Universidade de Évora/ICAM, Évora, 219 pp.
- Faria, A. (1887). Os prados e as plantas forraginosas (continuação). O Agricultor Portuguez: Jornal de agricultura, veterinária, sciencias e artes correlativas, Orgão da Comissão Geral da Cultura do Tabaco no Douro, Volume 10, Livraria Internacional de Ernesto Chardron/Lugan & Genelioux (sucessores), Porto, 387-392.
- Gonçalves, V., Serrano, J., Peça, J., Palma, P., Carvalho, M., Silva, J. e Roma, J. (2005). Variabilidade em pastagens permanentes: contributo para um projecto de agricultura de precisão. Livro de resumos das Jornadas Científicas ICAM, 15 e 16 de Dezembro de 2005, Universidade de Évora/Instituto de Ciências Agrárias Mediterrânicas, Évora, 86.
- Harker, K. N., Baron, V. S., Chanasyk, D. S., Naeth, M. A., & Stevenson, F. C. (2000). Grazing intensity effects on weed populations in annual and perennial pasture systems. Weed Science, 48(2), 231-238.
- Harrington, K. C., Thatcher, A., & Kemp, P. D. (2006). Mineral composition and nutritive value of some common pasture weeds. New Zealand Plant Protection, 59, 261-265.

Hector, A., Schmid, B., Beierkuhnlein, C., Caldeira, M., Diemer, M., Dimitrakopoulos, P., ... e Lawton, J. (1999). Plant diversity and productivity experiments in European grasslands. *Science*, 286(5442), 1123-1127.

Horta Marques, J. (2026). Avaliação do efeito da condutividade eléctrica e da compactação do solo sobre a produtividade de uma pastagem natural biodiversa no ecossistema Montado. Dissertação de Mestrado em Tecnologias em Agricultura de Precisão, Universidade de Évora – Escola de Ciências e Tecnologia/ Universidade Nova de Lisboa – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Évora, 184 pp.

Mendes, R. (1893). Estatística agrícola do concelho de S. Thiago do Cacem. *Boletim da Direcção Geral D'Agricultura*, Ano 5, Vol. 9, 629-774.

Mendes, R. (1894). Estatística agrícola do concelho de Moura. *Boletim da Direcção Geral D'Agricultura*, Ano 6, Vol. 2, 179-301.

Mills, A., Smith, M., Lucas, R., & Moot, D. (2008). Dryland pasture yields and botanical composition over 5 years under sheep grazing in Canterbury. *New Zealand Grassland Association, Proceedings of the New Zealand Grassland Association*, 70, 37-44.

Mohler, C., Teasdale, J. and DiTommaso, A. (2021). Manage weeds on your farm: a guide to ecological strategies. SARE handbook series 16, Sustainable Agriculture Research and Education/USDA, 418 pp.

Monks, D.P., Moot, D.J., Smith, M.C. e Lucas, R.J. (2008). 'Bolta' balansa clover persistence in a grazed cocksfoot pasture depended on spring and summer grazing management. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*, 70, 233-238.

Moreira, N. (2002). *Agronomia das pastagens e forragens*. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, 183 pp.

Peça, J. (2005). Agricultura de decisão. Livro de resumos das Jornadas Científicas ICAM, 15 e 16 de Dezembro de 2005, Universidade de Évora/Instituto de Ciências Agrárias Mediterrânicas, Évora, 19.

Peça, J., Serrano, J., Roma J., Marques da Silva J., Mendes, J., Palma P., Carvalho, M., Crespo, D. e Novas, C. (2005). Variable rate application of fertilizer in a permanent pasture- an account of the first year of experimental tests in Portugal. *Proceedings of Joint Conference 5th Conference of the European Federation for Information Technology in Agriculture, food and Environment and 3rd World Congress on Computers in Agriculture and Natural Resources (EFITAWCCA2005)*, July 25–28, Vila Real, Portugal, 1241–1245.

Peça, J., e Serrano, J. (2006). *Agricultura de Precisão no Montado Alentejano*.

Pereira Coutinho, A. (1877). Os prados naturais no districto de Bragança (parte 3). *O Agricultor do Norte de Portugal*, *Jornal de Agricultura Pratica* dedicado ás províncias do Norte e publicado sob a direcção e auspícios do conselho de agricultura do districto do Porto, Volume 1, 1877–1878, Livraria Internacional, 226-232.

Rivas Goday, S. e Gelabert, L. (1963). Relacion y comentarios del viaje realizado por Segovia, Avila y Salamanca (VII reunion del grupo de trabajo de la F.A.O. para la mejora de pastos y forrajes de la Cuenca del Mediterraneo). *Anales Instituto Nacional de Investigaciones Agronomicas*, 12(4), *Direccion General de Agricultura, Ministerio de Agricultura, Madrid*, 218-249. (+ anexos)

Sales-Baptista, E., Ferraz-de-Oliveira, M. I., Lopes-de-Castro, J. A., Rato, L. e Cancela d'Abreu, M. (2016). Pastoreio de Precisão: monitorizar o comportamento dos animais para adaptar a oferta à procura. Santos, A. (Dir.), Revista Portuguesa de Zootecnia, Ano IV(1), 2ª série, 21º Congresso Nacional de Zootecnia, Associação Portuguesa de Engenharia Zootécnica, Vila Real, 126-133.

Silva, L. F., de Souza, D. C., Resende, L. V., Gonçalves, W. M., Pereira, T. D. A., & Vieira, S. D. (2018). Nutrição mineral, densidade de plantio, caracterização biométrica e fenológica de *Rumex acetosa* L. Revista de Ciências Agrárias, 41(1), 129-137.

Seccion de Plantas Forrajeras y Pratenses (1957). Memoria de los trabajos realizados durante la campaña 1955-56. Anales Instituto Nacional de Investigaciones Agronomicas, Vol. VI(3), Direccion General de Agricultura, Ministerio de Agricultura, Madrid, 227-298.

Serrano, J. (2024). Abordagem tecnológica para uma visão holística do Montado. Voz do Campo, (280), 68-69.

Serrano, J., Peça, J., Palma, P., Marques da Silva, J., Mendes, J., Carvalho, M., Roma, J., Crespo, D. e Casas Novas, A. (2005). Avaliação da variabilidade em pastagens permanentes: ferramenta de tomada de decisão. XV Congresso de Zootecnia/I Congresso Ibero-Americano de Zootecnia, UTAD, 2 a 5 de Novembro de 2005, Livro de Comunicações, Associação Portuguesa dos Engenheiros Zootécnicos, Vila Real, 286-290 pp.

Serrano, J., Marques da Silva, J. e Shahidian, S. (2014a). Avaliação do potencial para aplicação diferenciada de potássio nas pastagens permanentes no Alentejo: estudo de caso. Revista de Ciências Agrárias, 37(1), Sociedade de Ciências Agrárias de Portugal, Lisboa, 69-79.

Serrano, J., Peça, J., Marques da Silva, J. e Shahidian, S. (2014b). Avaliação de tecnologias para aplicação diferenciada de fertilizantes: novos conceitos de gestão em pastagens permanentes. Revista de Ciências Agrárias, Volume 37(3), Sociedade de Ciências Agrárias de Portugal, Lisboa, 253 – 269.

Serrano, J., Shahidian, S., Marques da Silva, J., Machado, E., e Carvalho, M. (2018). Avaliação do efeito das árvores sobre a produtividade e sobre a qualidade da pastagem no ecossistema Montado: estudo de caso. Revista de Ciências Agrárias, 41(1), 72-81.

Serrano, J., Shahidian, S., Costa, F., Carreira, E., Pereira, A. et Carvalho, M. (2021). Can soil pH correction reduce the animal supplementation needs in the critical autumn period in Mediterranean Montado Ecosystem?. Agronomy, 11, 514, 1-22.

Serrano, J., Shahidian, S., Machado, E., Paniagua, L., Carreira, E., Moral, F., Pereira, A., Carvalho, M. (2021). Floristic composition: dynamic biodiversity indicator of tree canopy effect on dryland and improved mediterranean pastures. Agriculture, 11, 1128, 1-25.

Serrano, J., Roma, L., Shahidian, S., Belo, A. D., Carreira, E., Paniagua, L. L., ... & Marques da Silva, J. (2022). A Technological Approach to Support Extensive Livestock Management in the Portuguese Montado Ecosystem. Agronomy, 12(5), 1212.

Serrano, J., Marques, J., Shahidian, S., Carreira, E., Marques da Silva, J., Paixão, L., ... e Sales-Baptista, E. (2023). Sensing and mapping the effects of cow trampling on the soil compaction of the Montado Mediterranean Ecosystem. Sensors, 23(2), 888

Sousa, E., Portugal, J. e Mira, C. (2009). Flora adventícia em vinhas de Évora e Borba. Sousa, E., Calha, I., Moreira, I., Monteiro, A., Rodrigues, L., Portugal, J. e Vasconcelos, T. (ed.s), *Herbologia e Biodiversidade numa Agricultura Sustentável*, Volume I, XII Congresso da Sociedad Española de Malherbologia (SEMh)/XIX Congresso da Asociacion Latinoamericana de Malezas (ALAM)/II Congresso Iberoamericano de Ciencias de las Malezas (IBCM), Lisboa, 10 a 13 de Novembro de 2009, ISAPress, Lisboa, 279-281.

Stählin, A. e Skirde, W. (1986). Ervas daninhas e parasitas dos prados e pastagens permanentes. Klapp, E., *Prados e Pastagens*, 2ª edição, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 375-462.

Teixeira, J. (1869). Veterinaria pratica: uma palavra sobre a peleira – envenamento pelo acido oxalico. *O Archivo Rural: Jornal de Agricultura, Artes e Sciencias Correlativas*, Ano 12, Typographia Universal, Lisboa, 595-596.

Vasconcelos, T., Filipe, N., Santos, F. e Franqueira, J. (1993). Flora adventícia de pomares de macieiras. *Revista de Ciências Agrárias*, 16(1-3) Vol. Especial: Simpósio Protecção Integrada em Macieira e Pereira, Fundação Calouste Gulbenkian, 19-20 Dezembro 1991, Sociedade Portuguesa de Fitiatria e Fitofarmacologia/Sociedade de Ciências Agrárias de Portugal, 383-392.

Vasconcelos, T., Portugal, J. e Moreira, I. (2000). Flora infestante das culturas de sequeiro no Alentejo. *Escola Superior Agrária de Beja*, Beja, 143 pp.

Villax, E. (1963). La culture des plantes fourrageres dans la region méditerranéenne occidentale: Maroc, Portugal, Tunise, Algerie, Espagne, France. *Les cahiers de la reserche agronomique*, nº 17, Institut National de la Reserche Agronomique, Rabat, 641 pp.

Velez, J., Regato, J., Ferro Palma, J., Santos, J., Patanita, M., Penacho, J. e Parreira, A. (1994). Contribuição para o estudo de espécies de *Lupinus* como alternativa cultural nos solos Mediterrâneos Vermelhos e Amarelos do Baixo Alentejo. Fontes, A. (ed.), *Revista Portuguesa de Zootecnia*, 1(1)/IV Congresso de Zootecnia, Associação Portuguesa dos Engenheiros Zootécnicos, Vila Real, 295-308.

Watson, K. J., Moir, J. L., Alster, C. J., Condon, L. M., e Black, A. D. (2026). Regenerative management and phosphorus fertiliser effects on dryland pasture yield and botanical composition in New Zealand. *Grass and Forage Science*, 81(1), e70037, 1-11.

Willard, C. (1978). Destrucion de las malas hierbas eb los forrajes. Hughes, H., Heath, M. e Metcalfe, D., *Forrajes: la ciência de la agricultura basada en producción de Pastos*. Octava impresión, Compañia Editorial Continental, S. A. Mexico, 419-425.

TABELAS E FIGURAS

57

Tabela 1 - Classificação utilizada para a divisão das espécies botânicas

Espécie	Família	Classificação
<i>Agrostis pourretii</i>	<i>Poaceae</i>	Pratense
<i>Anagallis arvensis</i>	<i>Primulaceae</i>	Pratense
<i>Andryala integrifolia</i>	<i>Asteraceae</i>	Infestante
<i>Avena barbata</i>	<i>Poaceae</i>	Pratense
<i>Bromus diandrus</i>	<i>Poaceae</i>	Pratense
<i>Bromus hordeaceus</i>	<i>Poaceae</i>	Pratense
<i>Bromus rigidus</i>	<i>Poaceae</i>	Pratense
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	<i>Brassicaceae</i>	Tóxica
<i>Carduus tenuiflorus</i>	<i>Asteraceae</i>	Agressiva
<i>Cerastium tomentosum</i>	<i>Caryophyllaceae</i>	Infestante
<i>Chamaemelum fuscum</i>	<i>Asteraceae</i>	Tóxica
<i>Chamaemelum mixtum</i>	<i>Asteraceae</i>	Tóxica
<i>Coleostephus myconis</i>	<i>Asteraceae</i>	Infestante
<i>Crepis capillaris</i>	<i>Asteraceae</i>	Infestante
<i>Cynosurus echinatus</i>	<i>Poaceae</i>	Pratense
<i>Dactylis glomerata</i>	<i>Poaceae</i>	Pratense
<i>Echium plantagineum</i>	<i>Boraginaceae</i>	Tóxica
<i>Erodium botrys</i>	<i>Geraniaceae</i>	Tóxica
<i>Galactites tomentosus</i>	<i>Asteraceae</i>	Agressiva
<i>Gaudinia fragilis</i>	<i>Poaceae</i>	Infestante
<i>Geranium molle</i>	<i>Geraniaceae</i>	Infestante
<i>Geranium rotundifolium</i>	<i>Geraniaceae</i>	Infestante

TABELAS E FIGURAS

58

Tabela 1 - Classificação utilizada para a divisão das espécies botânicas

Espécie	Família	Classificação
<i>Hedypnois cretica</i>	<i>Asteraceae</i>	Infestante
<i>Hordeum murinum ssp. leporinum</i>	<i>Poaceae</i>	Agressiva
<i>Hypochaeris glabra</i>	<i>Asteraceae</i>	Infestante
<i>Hypochaeris radicata</i>	<i>Asteraceae</i>	Infestante
<i>Juncus bufonius</i>	<i>Juncaceae</i>	Infestante
<i>Lavatera cretica</i>	<i>Malvaceae</i>	Infestante
<i>Leontodon taraxacoides</i>	<i>Asteraceae</i>	Infestante
<i>Lolium aristatum</i>	<i>Poaceae</i>	Pratense
<i>Lotus parviflorus</i>	<i>Fabaceae</i>	Pratense
<i>Malva parviflora</i>	<i>Malvaceae</i>	Tóxica
<i>Mentha pulegium</i>	<i>Lamiaceae</i>	Medicinal
<i>Ornithopus compressus</i>	<i>Fabaceae</i>	Pratense
<i>Orobanche sp.</i>	<i>Orobanchaceae</i>	Infestante
<i>Plantago coronopus</i>	<i>Plantaginaceae</i>	Medicinal
<i>Plantago lagopus</i>	<i>Plantaginaceae</i>	Medicinal
<i>Plantago lanceolata</i>	<i>Plantaginaceae</i>	Medicinal
<i>Polycarpon tetraphyllum</i>	<i>Caryophyllaceae</i>	Infestante
<i>Raphanus raphanistrum</i>	<i>Brassicaceae</i>	Tóxica
<i>Rumex acetosella subsp. angiocarpus</i>	<i>Polygonaceae</i>	Tóxica
<i>Rumex bucephalophorus</i>	<i>Polygonaceae</i>	Tóxica
<i>Rumex crispus</i>	<i>Polygonaceae</i>	Tóxica

TABELAS E FIGURAS

Tabelas

Tabela 1 - Classificação utilizada para a divisão das espécies botânicas

Espécie	Família	Classificação
<i>Senecio jacobea</i>	<i>Asteraceae</i>	Tóxica
<i>Silene gallica</i>	<i>Caryophyllaceae</i>	Infestante
<i>Sisymbrium officinale</i>	<i>Brassicaceae</i>	Infestante
<i>Spergula arvensis</i>	<i>Caryophyllaceae</i>	Infestante
<i>Tolpis barbata</i>	<i>Asteraceae</i>	Infestante
<i>Torilis arvensis</i>	<i>Apiaceae</i>	Infestante
<i>Trifolium campestre</i>	<i>Fabaceae</i>	Pratense
<i>Trifolium cernuum</i>	<i>Fabaceae</i>	Pratense
<i>Trifolium glomeratum</i>	<i>Fabaceae</i>	Pratense
<i>Trifolium michelianum</i>	<i>Fabaceae</i>	Pratense
<i>Trifolium resupinatum</i>	<i>Fabaceae</i>	Pratense
<i>Trifolium strictum</i>	<i>Fabaceae</i>	Pratense
<i>Trifolium subterraneum</i>	<i>Fabaceae</i>	Pratense
<i>Trifolium vesiculosum</i>	<i>Fabaceae</i>	Pratense
<i>Tuberaria guttata</i>	<i>Cistaceae</i>	Infestante
<i>Vicia lutea</i>	<i>Fabaceae</i>	Pratense
<i>Vulpia bromoides</i>	<i>Poaceae</i>	Pratense
<i>Vulpia geniculata</i>	<i>Poaceae</i>	Pratense

Figuras



Figura 1 - Pastoreio selectivo no Montado com predomínio de espécies agressivas (ex: *Carlina* spp.) em Junho – Julho de 2024, evidenciado num traçado descontinuo a vermelho, com forma circular (foto: Filipa Caldeira).



Figura 2 - Pastagem infestada por *Urginea maritima*, nome vulgar: cebola-albarrã (exemplificado num traçado descontinuo circular a vermelho), uma espécie tóxica (em Montado de azinho, Avis, 21 de Março de 2024, Foto Filipa Caldeira).



Figura 3 - Mancha de *Rumex* sp. (de flor vermelha) e algumas *Chamaemelum mixtum* (L.) All. (de flor branca) espécies tóxicas da pastagem de sequeiro. (Mitra, 10 de Março de 2022).



Figura 4 - Animais a pastorear na parcela Mitra A. Durante o estudo e ao longo de vários anos o manejo da área experimental tem sido o mesmo. Os animais, durante o ciclo vegetativo da pastagem alternavam entre a parcela Mitra A ou Mitra B.

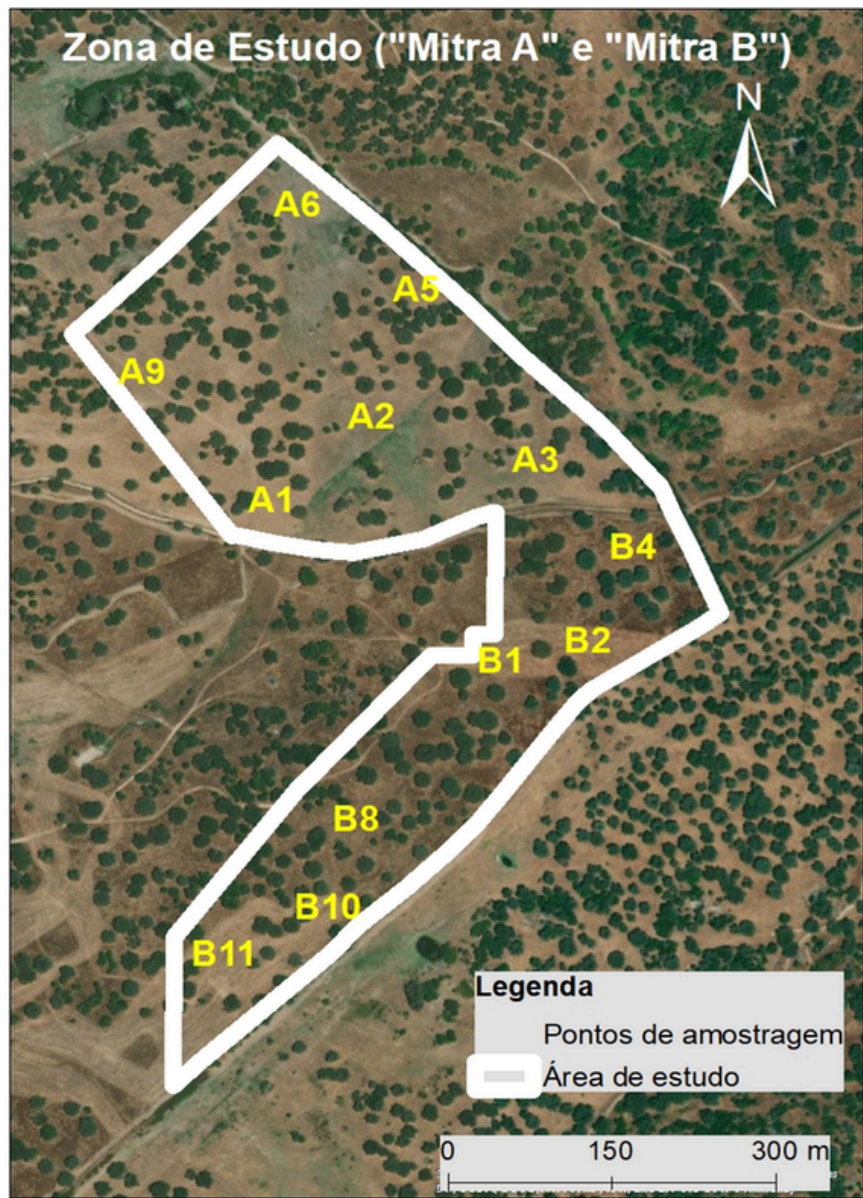


Figura 5 - Área de estudo com os de amostragem (Horta Marques, 2026).

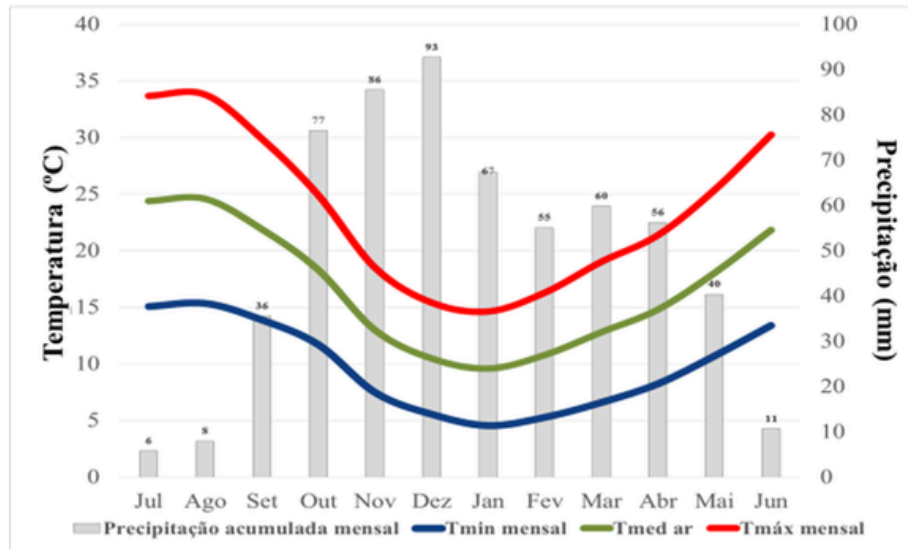


Figura 6 - Gráfico termopluiométrico da Estação Meteorológica da Mitra no trinténio 1994/95 – 2023/24 (Horta Marques, 2026).

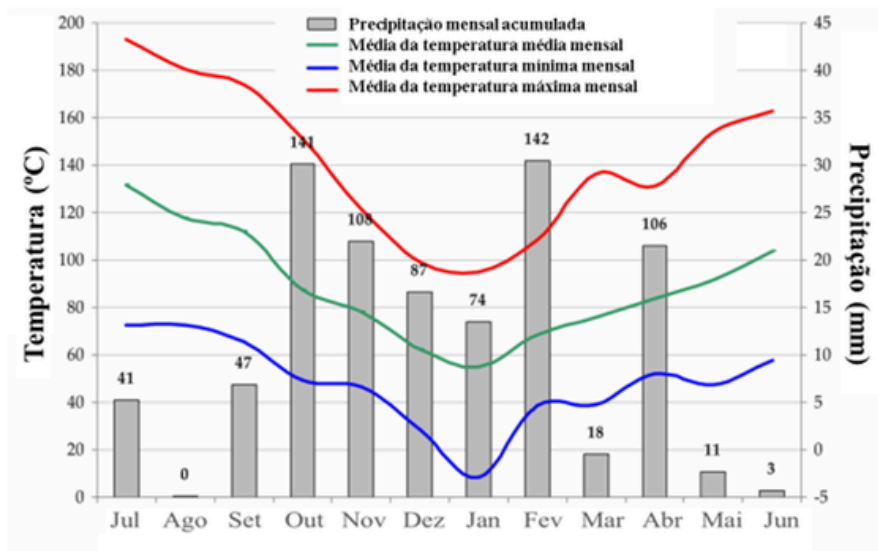


Figura 7 - Gráfico termopluiométrico da Herdade da Mitra do ano de estudo, 2020/21 (adaptado de Serrano et al., 2022).

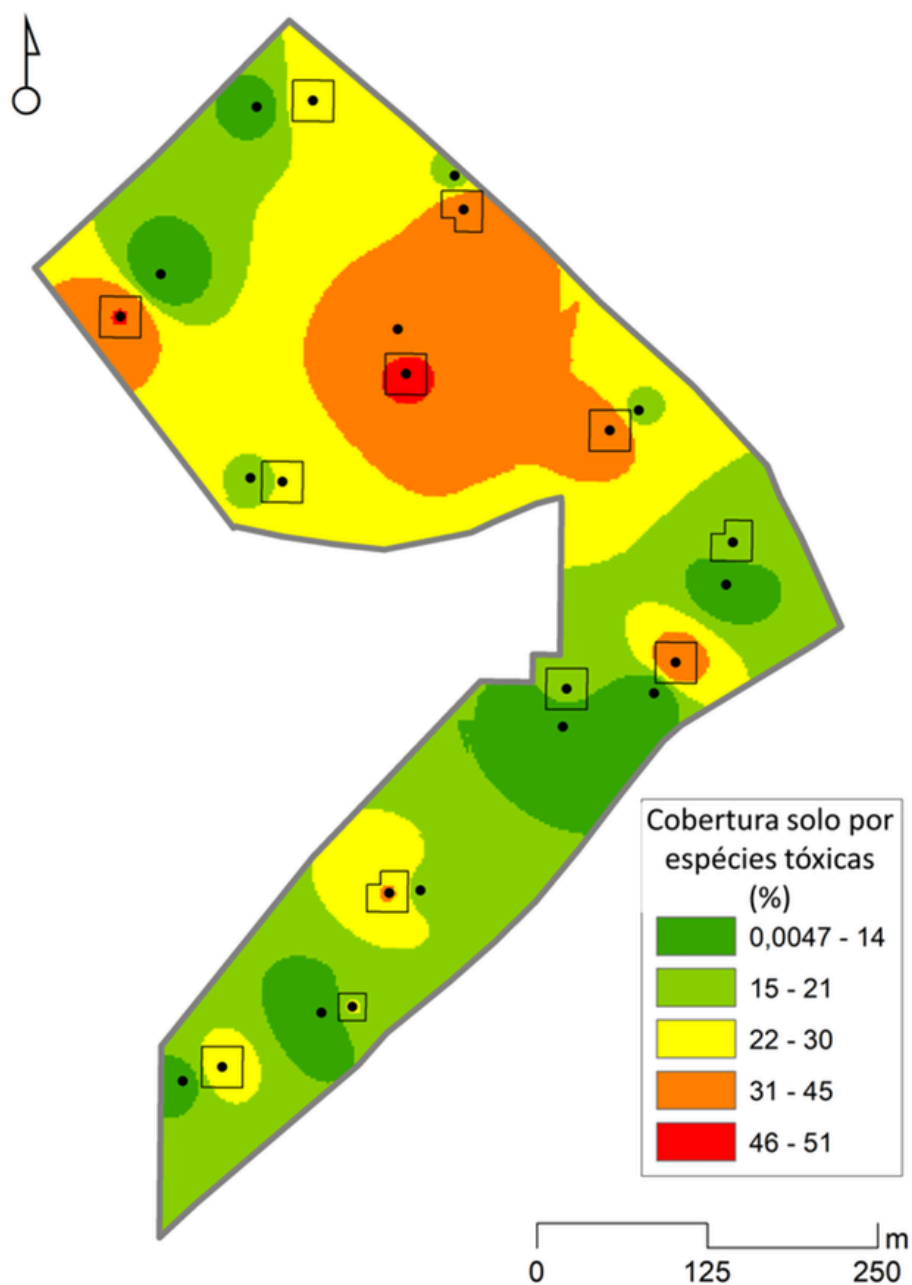


Figura 8 - Distribuição espacial da cobertura do solo com espécies tóxicas. Os quadrados referem-se às áreas fora da influência da copa das árvores (FCA) e as restantes áreas, a negrito, locais debaixo da copa de azinheiras (DCA).

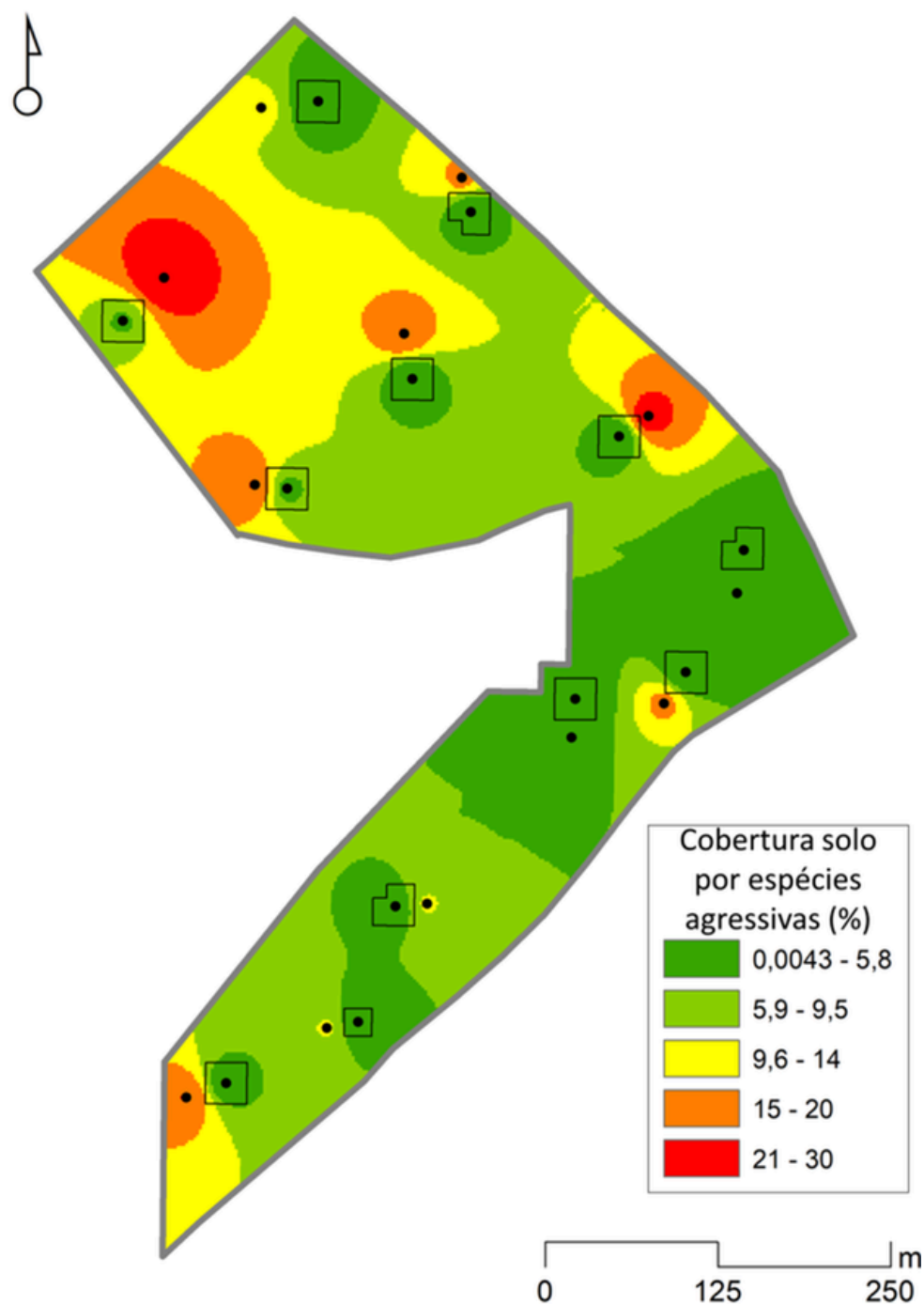


Figura 9 - Distribuição espacial da cobertura do solo com espécies agressivas. Os quadrados referem-se às áreas fora da influência da copa das árvores (FCA) e as restantes áreas, a negrito, locais debaixo da copa de azinheiras (DCA).

TABELAS E FIGURAS

66

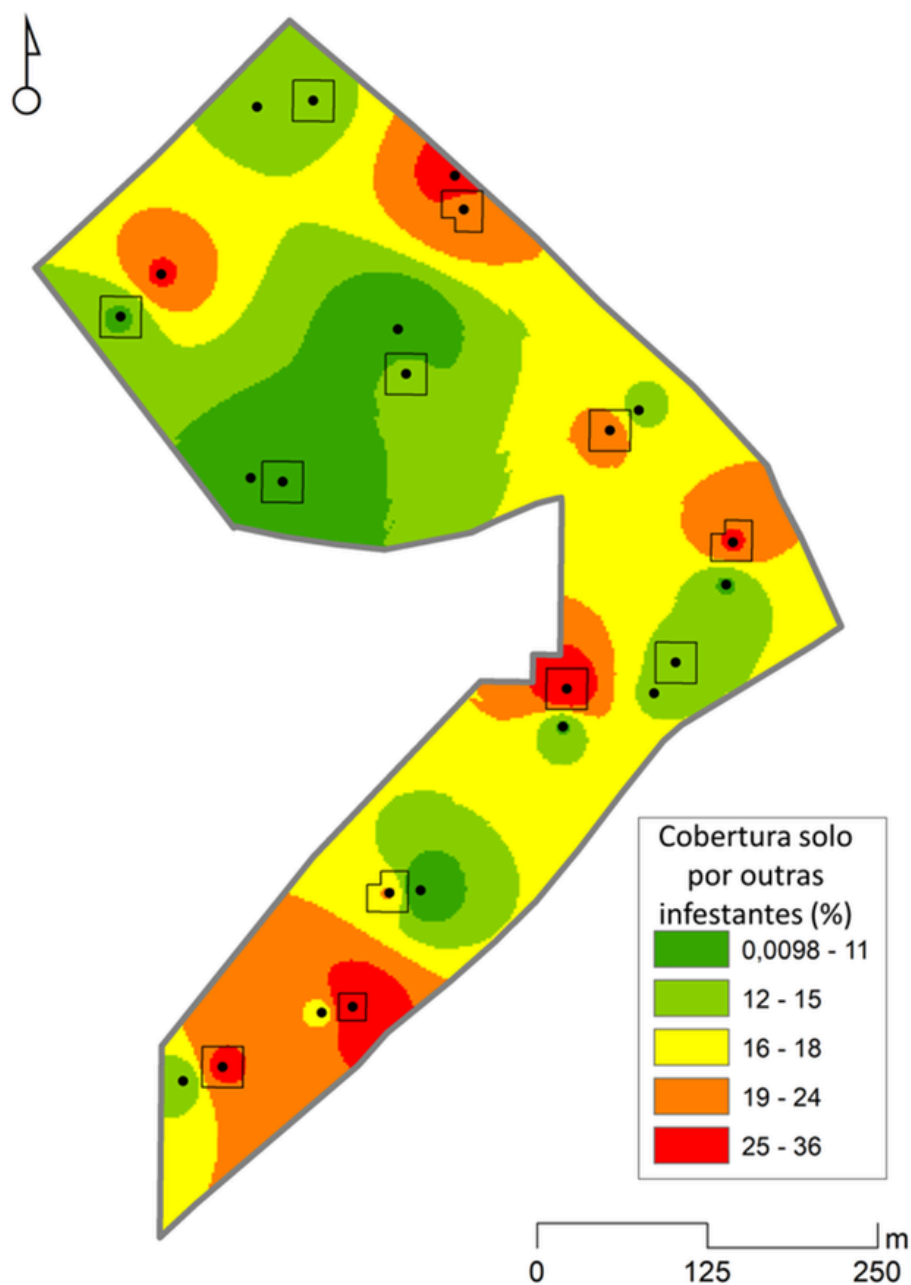


Figura 10 - Distribuição espacial da cobertura do solo com espécies infestantes. Os quadrados referem-se às áreas fora da influência da copa das árvores (FCA) e as restantes áreas, a negrito, locais debaixo da copa de azinheiras (DCA).

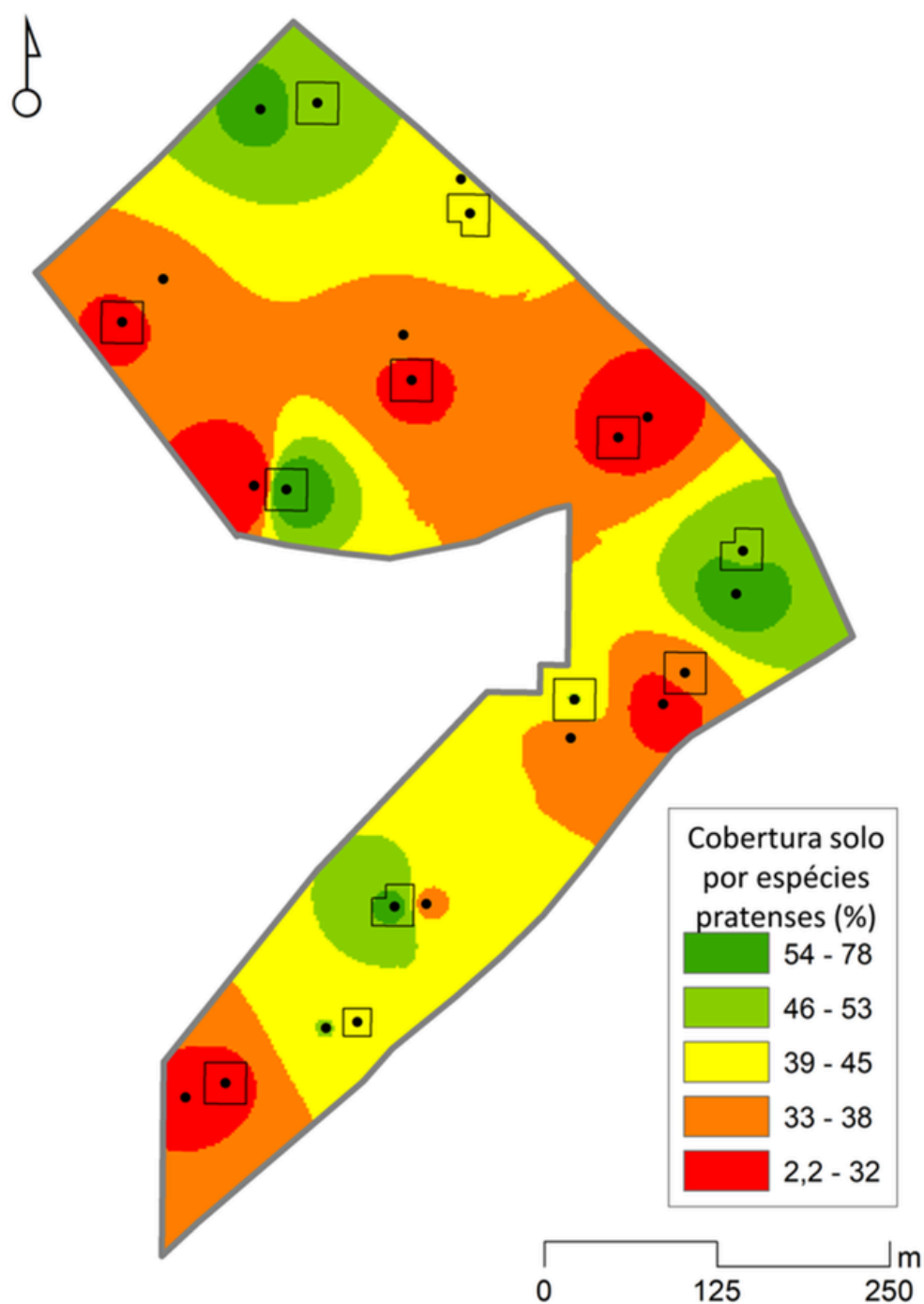


Figura 11 - Distribuição espacial da cobertura do solo com espécies pratenses. Os quadrados referem-se às áreas fora da influência da copa das árvores (FCA) e as restantes áreas, a negrito, locais debaixo da copa de azinheiras (DCA).

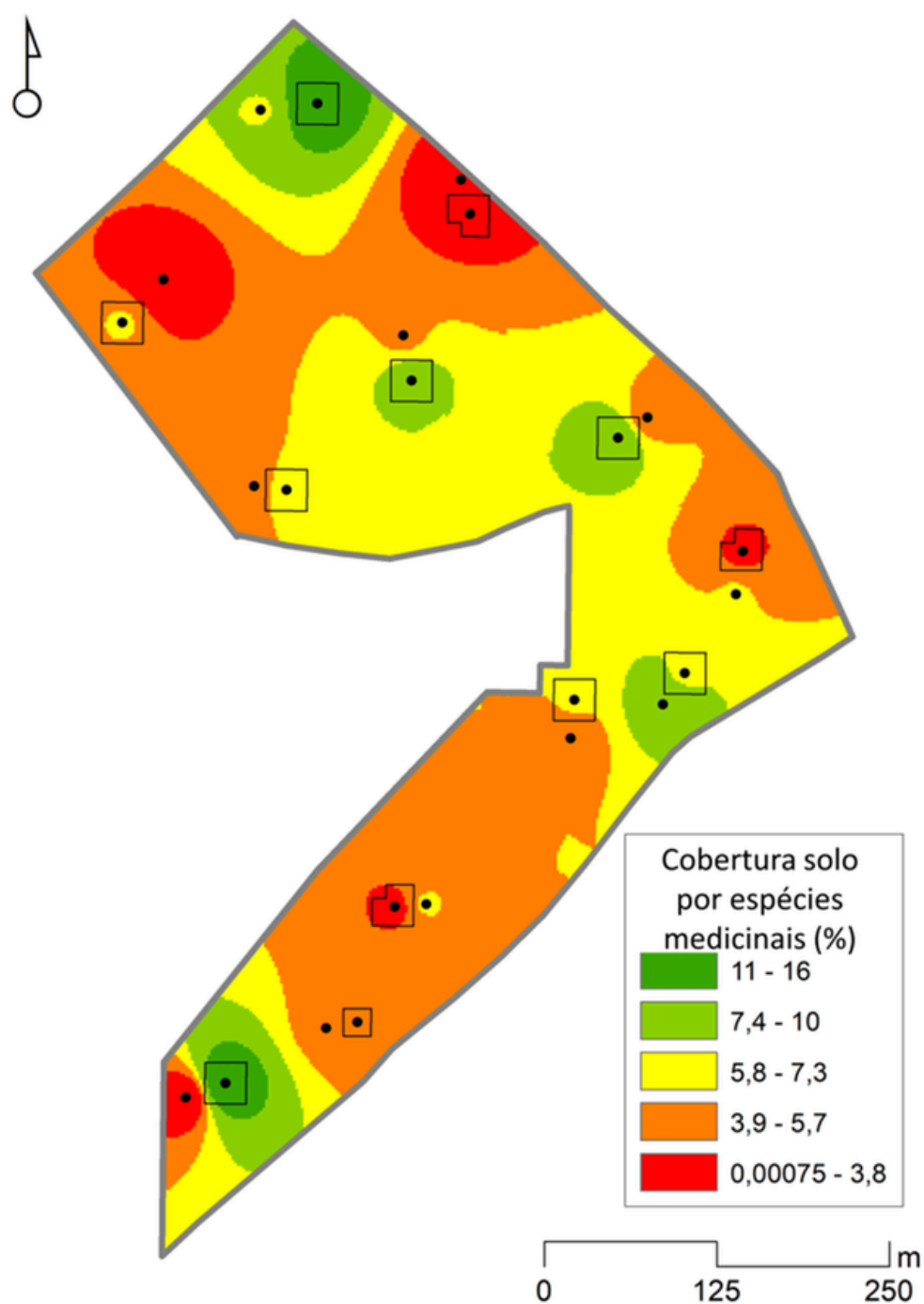


Figura 12 - Distribuição espacial da cobertura do solo com espécies medicinais. Os quadrados referem-se às áreas fora da influência da copa das árvores (FCA) e as restantes áreas, a negro, locais debaixo da copa de azinheiras (DCA).

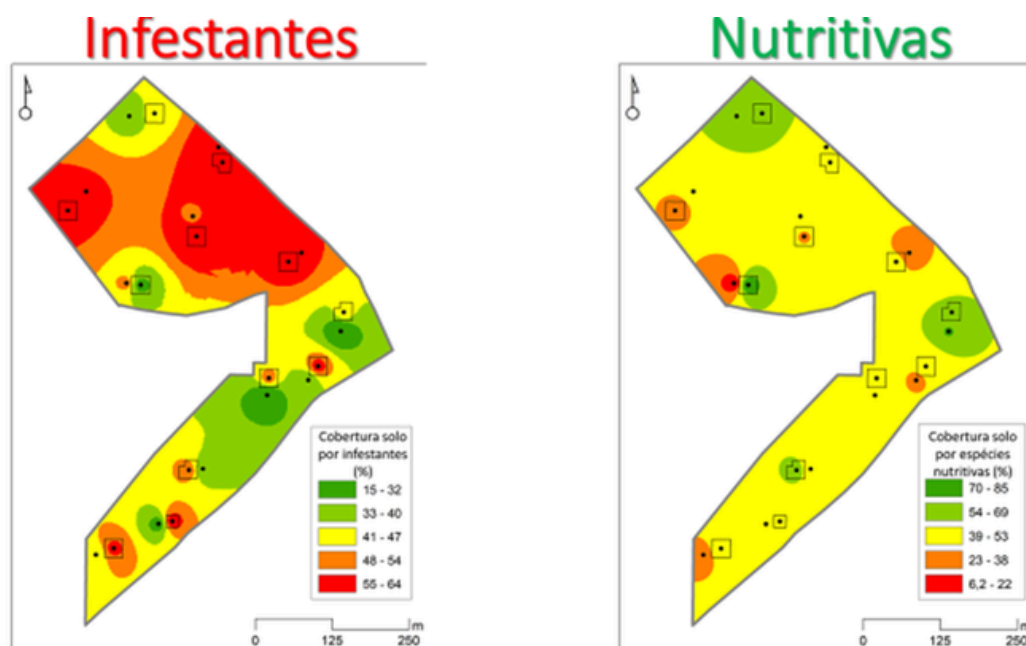


Figura 13 - Esquerda – Distribuição espacial da cobertura do solo com espécies infestantes (infestantes = tóxicas + agressivas + outras infestantes); Direita – Distribuição espacial da cobertura do solo com espécies nutritivas (nutritivas = pratenses + medicinais). Os quadrados referem-se às áreas fora da influência da copa das árvores (FCA) e as restantes áreas, a negrito, locais debaixo da copa de azinheiras (DCA).

Collares GPS en la vigilancia de vectores transmisores de enfermedades: otra función preventiva con IA

José Ángel Hernández Malagón^{1*},
Elio López²,
Inês Abreu Ramos¹,
Carlota Antelo²,
David Boso¹,
Gustavo Paixão³,
Joaquim Cerqueira³,
Alicja Kowalczyk⁴,
Pedro Vaz⁵,
Jesús Cantalapiedra⁶,
José Pedro Araújo³,
Cristiana Cazapal¹,
Mercedes Camiña⁷,
María Sol Arias¹

¹ Grupo de Investigación COPAR (GI-2120), Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria, Universidade de Santiago de Compostela. Campus Terra, Lugo (España).

² Innogando S.L. Technologies. Cospeito. Lugo (España).

³ Grupo Disciplinar de Ciências Agronómicas e Veterinárias. Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Viana do Castelo. Refóios de Lima (Portugal).

⁴ Department of Environmental Hygiene and Animal Welfare. Wrocław University of Environmental and Life Sciences. Wrocław (Poland).

⁵ Associação de Criadores da Raça Aberdeen-Angus Portugal. Angra do Heroísmo (Portugal).

⁶ Servicio de Ganadería. Consellería do Medio Rural, Xunta de Galicia. Lugo (España).

⁷ Departamento de Fisiología. Facultad de Veterinaria, Universidade de Santiago de Compostela. Campus Terra, Lugo (España).

*Autor Correspondente: joseangel.malagon@usc.es

RESUMEN

El desarrollo de collares inteligentes con GPS e Inteligencia Artificial (IA) representa un avance significativo para la ganadería extensiva, permitiendo la monitorización constante de la ubicación y el bienestar animal. Este estudio evaluó la utilidad de la información proporcionada por estos dispositivos en la vigilancia de vectores (garrapatas y dípteros) transmisores de enfermedades que afectan tanto a la sanidad animal como a la salud humana en la provincia de Lugo (España). Entre mayo y julio de 2024, se seleccionaron cuatro áreas geolocalizadas mediante collares utilizados por vacas (3) y caballos (1), y cuatro áreas de control sin presencia animal conocida. Para la recolección de garrapatas en la vegetación, se empleó el método de dragging (arrastre de manta blanca) en trayectos de 10 m repetidos cuatro veces por punto. La captura de dípteros se realizó con trampas CDC de luz UV durante dos noches consecutivas por zona. Los resultados revelaron que en el 100% de las áreas georreferenciadas con GPS se recolectaron garrapatas (*Ixodes ricinus* y *Dermacentor reticulatus*) y dípteros (*Culex pipiens* s.l., *Culicoides* y *Stomoxys calcitrans*). En contraste, sólo el 25% de las áreas sin animales arrojaron resultados positivos. Estos datos demuestran que el conocimiento preciso del posicionamiento de los animales en pastoreo optimiza el éxito de la vigilancia entomológica y permite una gestión más eficiente de los recursos. Se concluye que la integración de datos de IA en la monitorización de vectores es una herramienta preventiva crucial para anticipar riesgos sanitarios en sistemas extensivos, facilitando estrategias de control más eficaces bajo el enfoque de "Una Sola Salud".

PALABRAS CLAVE

IA, GPS, vigilancia, vectores, extensivo

ABSTRACT

The development of smart collars equipped with GPS and Artificial Intelligence (AI) represents a significant advancement for extensive livestock farming, enabling continuous monitoring of animal location and welfare. This study evaluated the utility of information provided by these devices for the surveillance of vectors (ticks and dipterans) that transmit diseases affecting both animal and human health in the province of Lugo (Spain). Between May and July 2024, four areas geolocated using collars worn by cows (3) and horses (1) were selected, alongside four control areas with no known animal presence. For tick collection in vegetation, the dragging method (white cloth dragging) was used in 10 m paths repeated four times per site. Dipteran capture was conducted using UV light CDC traps for two consecutive nights per area. The results revealed that in 100% of the GPS-georeferenced areas, ticks (*Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus*) and dipterans (*Culex pipiens s.l.*, *Culicoides*, and *Stomoxys calcitrans*) were collected. In contrast, only 25% of the areas without animals showed positive results. These data demonstrate that precise knowledge of animal positioning in the pasture optimizes the success of entomological surveillance and allows for more efficient resource management. It is concluded that the integration of AI data in vector monitoring is a crucial preventive tool for anticipating health risks in extensive systems, facilitating more effective control strategies under the "One Health" approach.

KEYWORDS

AI, GPS, surveillance, vectors, extensive.

INTRODUCCIÓN

La ganadería extensiva en Europa, y particularmente en la región atlántica de la Península Ibérica, se enfrenta a un creciente desafío que guarda relación con el cambio climático y su posible influencia en la expansión de enfermedades transmitidas por vectores (ETV). En este contexto, la interfaz entre la fauna silvestre, el ganado doméstico y el ser humano crea un ecosistema complejo, y muchas veces desconocido, donde la circulación de patógenos es constante. La gestión sanitaria moderna exige una transición desde modelos reactivos hacia estrategias de vigilancia proactivas y preventivas, enmarcadas en el paradigma de "Una Salud" (One Health).

La monitorización de artrópodos hematófagos, como garrapatas de las familias *Ixodidae* y dípteros de los géneros *Culex* o de *Culicoides*, es fundamental, ya que actúan como vectores de patógenos de alto impacto socioeconómico y sanitario, agentes etiológicos de enfermedades como la encefalitis transmitida por garrapatas, la enfermedad de Lyme (Pena et al., 2025), la fiebre del Nilo Occidental o la lengua azul (Cazapal-Monteiro et al., 2025). Sin embargo, la vigilancia entomológica tradicional a menudo se enfrenta a la dificultad de identificar puntos críticos representativos de muestreo en grandes extensiones de terreno, lo que deriva en una inversión ineficiente de tiempo, así como de recursos humanos (Newman et al., 2019)[JH1].

La irrupción de la ganadería de precisión (precision livestock monitoring o PLF, por sus siglas en inglés) ha transformado esta realidad (Menezes et al., 2024). El desarrollo de collares inteligentes que integran sistemas de posicionamiento global (GPS) y algoritmos de Inteligencia Artificial (IA), no sólo permite localizar al ganado en tiempo real, sino también analizar patrones de comportamiento, áreas de descanso y rutas de pastoreo preferentes. Estos dispositivos, entre los que se encuentran algunos desarrollados por la empresa Innogando S.L. Technologies (Cospeito, Lugo, España), generan una enorme cantidad de datos que, hasta ahora, se utilizaban principalmente para la gestión productiva y el bienestar animal, pero que podrían ser utilizados en la detección temprana de alertas sanitarias, la optimización de servicios ecosistémicos, y también en aplicaciones disruptivas de la computación avanzada que aún están por desarrollar.

La hipótesis del presente trabajo consiste en que la información geoespacial generada por estos collares puede ser utilizada como un indicador indirecto (centinela) para localizar biotopos con alta densidad de vectores. Dado que los hospedadores atraen a los vectores mediante estímulos químicos (CO_2) y térmicos, las zonas de mayor permanencia del ganado geolocalizadas mediante IA deberían presentar una mayor tasa de captura de vectores, en comparación con zonas aleatorias del mismo terreno donde los animales pasen menos tiempo.

El objetivo de este estudio es llevar a cabo un estudio inicial de cómo la integración de la IA y el GPS en el manejo ganadero constituye una herramienta de vigilancia epidemiológica avanzada, optimizando la recogida de vectores y permitiendo una evaluación del riesgo sanitario más precisa tanto para la sanidad animal como para la salud pública.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio se basó exclusivamente en la monitorización remota de la actividad animal mediante dispositivos no invasivos, y en la recogida de muestras entomológicas en el medio ambiente. Debido a que no se realizó ninguna manipulación física, intervención clínica ni alteración del comportamiento natural de los animales, no fue necesaria la aplicación de normativas específicas sobre experimentación animal, y tampoco la aprobación por parte de comités de bioética para procedimientos experimentales.

El estudio se llevó a cabo en la provincia de Lugo (Galicia, España) ($43^{\circ}00' \text{ N } 7^{\circ}30' \text{ W}$), un área que se caracteriza por un clima con abundantes precipitaciones y temperaturas moderadas prácticamente a lo largo de todo el año, condiciones que favorecen el desarrollo de diversas especies de vectores. La toma de muestras se realizó entre los meses de mayo y julio de 2024, coincidiendo con el periodo de mayor actividad biológica de garrapatas y dípteros en la zona. Las zonas de muestreo se seleccionaron bajo dos criterios, de un lado, en áreas de pastoreo extensivo con presencia de ganado que portaba elementos de geolocalización, y de otro, en áreas de control sin presencia animal conocida al considerar la toma de muestras, que además mostraban características similares de vegetación.

Tecnología de monitorización y selección de puntos

Se utilizaron collares inteligentes del sistema RUMI[®] (Fig. 1), desarrollados por la empresa Innogando S.L. Technologies (Cospeito, Lugo, España). Estos dispositivos se emplean como wearables avanzados, que son dispositivos electrónicos (como relojes inteligentes, pulseras de actividad, gafas inteligentes) que se colocan en el cuerpo como accesorios, ropa o incluso implantes, y que cuenta con capacidad para interactuar con el usuario y otros dispositivos, lo que hace posible monitorizar, recopilar datos o realizar funciones específicas, ampliando la capacidad humana o proporcionando información útil en tiempo real. Estos dispositivos integran sensores de movimiento y sistemas de posicionamiento global (GPS) para la monitorización en tiempo real del ganado. Aunque en el presente estudio los datos se presentan a nivel individual (3 vacas y 1 caballo), en realidad cada animal monitorizado formaba parte de su respectivo rebaño o grupo de pastoreo, actuando como centinela del colectivo.

La plataforma de IA asociada a los collares permite generar mapas térmicos (heatmaps) que visualizan la intensidad de uso del espacio por parte de los animales (Figura 2).[JH1] Mediante el análisis de estos patrones de comportamiento, se identificaron específicamente las zonas donde los animales habían permanecido detenidos durante periodos prolongados en el último mes, ya fuera realizando actividades de descanso, sueño o rumia. Estas localizaciones fueron seleccionadas como puntos de muestreo entomológico, dada la supuesta mayor probabilidad de concentración de vectores atraídos por el hospedador.

Muestreo de vectores

Para la captura de garrapatas en la vegetación, se empleó el método de arrastre utilizando una manta de franela de algodón blanco de 1 m x 1 m, también conocido como dragging (Newman et al., 2019; Pena et al., 2025) (Figura 3). Este procedimiento se realizó manteniendo un contacto total con la hojarasca y la vegetación, deteniéndose cada 2-3 minutos para retirar los ejemplares adheridos. En cada punto geolocalizado, se realizaron cuatro muestreos de aproximadamente 10 metros, priorizando microhábitats óptimos como áreas de vegetación media y zonas con sombra perimetral.

En la captura de dípteros adultos, se utilizaron trampas de luz ultravioleta (CDC-UV) Modelo 512 (Entomopraxis[®], Barcelona, España). Las trampas se colocaron a una altura de 1,7 metros sobre el suelo (Figura 4), en las inmediaciones de los animales, permaneciendo operativas de forma continua desde el anochecer hasta la mañana siguiente (aproximadamente 12 horas).

Conservación de las muestras

Una vez recolectados, los especímenes fueron trasladados al laboratorio del grupo COPAR en la Facultad de Veterinaria de Lugo para su procesamiento:

- Garrapatas: Los ejemplares se colocaron en tubos de vidrio debidamente etiquetados y, posteriormente, se preservaron en alcohol al 70% o en solución RNAlater[®] para mantener la integridad de los ácidos nucleicos para futuros análisis.
- Dípteros: Los tanques de recolección de las trampas CDC se transportaron al laboratorio y se mantuvieron en congelación a -18°C o -20°C para su posterior identificación y almacenamiento.

Identificación taxonómica

La identificación de especie, sexo y estadio biológico de los vectores se realizó mediante microscopía estereoscópica (Leica EZ4D). Para asegurar la precisión diagnóstica, se utilizaron las siguientes claves taxonómicas y criterios morfológicos de referencia:

- Para garrapatas: Se emplearon las claves de Estrada-Peña et al (2018) y Walker et al (2003)[JH1].
- Para dípteros (*Culicidae* y *Ceratopogonidae*): La identificación se basó en manuales especializados y claves interactivas, incluyendo los criterios de (Becker et al., 2020), y las claves para la región euro-mediterránea (Gunay et al., 2016). En el caso de los dípteros del género *Culicoides*, se utilizaron criterios específicos basados en los patrones de las alas (Rawlings, 1996).

Análisis de datos

Los datos fueron procesados mediante un análisis descriptivo para determinar la frecuencia de presencia de cada taxón, comparando la tasa de éxito de captura entre los puntos identificados por IA y las zonas de control.

RESULTADOS

La aplicación de la tecnología de geolocalización e Inteligencia Artificial permitió la identificación de puntos de muestreo entomológico. Se comparó la presencia de artrópodos hematófagos entre las zonas determinadas por la actividad animal y las zonas de control aleatorias, obteniéndose que (Figura 5):

- En el 100% (4/4) de las áreas georreferenciadas mediante los mapas térmicos de los collares GPS, se confirmó la presencia simultánea de garrapatas y dípteros de interés sanitario.

En las áreas de control (seleccionadas sin información de presencia animal), únicamente el 25% (1/4) de las localizaciones resultó positiva para la captura de estos vectores.

Identificación de garrapatas (Ixodidae)

En todas las zonas vinculadas a la monitorización GPS se recolectaron ejemplares de garrapatas mediante la técnica de dragging. El análisis taxonómico realizado por el grupo COPAR permitió identificar las siguientes especies de interés sanitario:

- *Ixodes ricinus*.
- *Dermacentor reticulatus*.

Identificación de dípteros de interés sanitario

La identificación de dípteros se centró en aquellos con capacidad demostrada como vectores de enfermedades zoonóticas o patologías de relevancia en veterinaria y salud humana. En los puntos de geolocalización animal se obtuvieron ejemplares de las siguientes especies y géneros vectoriales:

- *Culex pipiens s.l.*
- *Culicoides spp.*
- *Stomoxys calcitrans*.

DISCUSIÓN

Mediante el presente estudio pone de manifiesto cómo la convergencia entre la ganadería de precisión y la entomología sanitaria puede optimizar los programas de vigilancia de enfermedades vectoriales en entornos de producción extensiva. La disparidad observada en los resultados de captura, con una positividad del 100% en las zonas geolocalizadas frente a un escaso 25% en las de control, es especialmente relevante si se considera que ambos tipos de áreas pertenecían a la misma finca y eran igualmente accesibles para el ganado. Este hallazgo indica que la mera disponibilidad de terreno no determina la presencia del vector, sino que esta se concentra de manera crítica en los puntos donde los animales deciden pasar la mayor parte del tiempo, especialmente durante periodos prolongados de inactividad.

Desde una perspectiva sanitaria, la identificación de especies como *Ixodes ricinus* y *Dermacentor reticulatus* en las áreas de mayor permanencia del ganado tiene implicaciones directas para la salud pública en el noroeste de la Península Ibérica. La especie de garrapata *I. ricinus* es el principal vector en Europa de la bacteria *Borrelia burgdorferi s.l.*, agente de la enfermedad de Lyme, mientras que *D. reticulatus* desempeña un papel clave en la transmisión de rickettsiosis y diversas babesiosis animales.

El hecho de que estas garrapatas se concentren en las zonas de descanso geolocalizadas sugiere que el ganado actúa como un potente factor de agregación biológica, aumentando el riesgo de transmisión no solo para el rebaño, sino para cualquier trabajador rural que frecuente estos puntos calientes identificados mediante IA.

En cuanto a los dípteros, la captura constante de *Culex pipiens* s.l. representa un hallazgo de enorme trascendencia bajo el enfoque "Una Sola Salud". Este mosquito actúa como vector puente para virus zoonóticos como el del Nilo Occidental (WNV) y el Usutu. La presencia simultánea de ganado bovino y equino en puntos con alta densidad de *Culex* y *Culicoides* —estos últimos responsables de la Lengua Azul y el virus de Schmallenberg— resalta la utilidad de la geolocalización para establecer mapas de riesgo dinámicos que superan la capacidad de la vigilancia tradicional (Cazapal-Monteiro et al., 2025).

Uno de los aportes más innovadores de esta metodología reside en la capacidad de identificar "zonas calientes" o hotspots para transformar radicalmente el control de vectores. Tradicionalmente, la lucha contra artrópodos hematófagos se basa en tratamientos generalizados sobre todo el rebaño o aplicaciones ambientales indiscriminadas que conllevan altos costes y riesgos ambientales. No obstante, al conocer las ubicaciones exactas donde se produce el mayor contacto entre vector y hospedador, se pueden implementar estrategias de manejo integrado con un uso mínimo de medios químicos. Esto incluye la posibilidad de realizar intervenciones físicas selectivas, como la limpieza de maleza o el drenaje de bebederos solo en las zonas de pernocta, o la aplicación dirigida de biocidas únicamente en las coordenadas indicadas por los mapas térmicos de los collares. El uso de la tecnología para supervisar de forma remota y continua la salud, el comportamiento y las condiciones ambientales de cada animal se ha definido como «supervisión ganadera de precisión» (PLF) (Eckelkamp, 2019). Mediante el uso de sensores, el análisis de datos y la automatización, los ganaderos reciben información en tiempo real, lo que les permite tomar decisiones de gestión proactivas y optimizar el bienestar animal, la productividad y la utilización de los recursos. En la ganadería de producción, el término digitalización se refiere a menudo a la tecnología de sensores, el procesamiento electrónico de datos o los sistemas automatizados, por ejemplo, en el ordeño (Kleen & Guatteo, 2023). La PLF incluye robots o sensores que recopilan y producen datos que son calculados y analizados por algoritmos para generar información relevante. Es interesante señalar que la digitalización se refiere a diversas tendencias e innovaciones que facilitan los cambios en los modelos de negocio y generan nuevas oportunidades de valor, con el apoyo de diversas herramientas digitales (Lamanna et al., 2025). Algunas tecnologías se han implementado muy rápidamente (por ejemplo, la localización de animales, la detección del celo y la detección del parto), especialmente en la producción de ganado lechero (Kaur & Virk, 2025).

Como se mencionó anteriormente, se han utilizado ganado vacuno y caballos criados en condiciones de pastoreo o silvicultura para obtener información sobre la utilidad de los collares GPS como ayuda en el diseño de protocolos de vigilancia de vectores. Este enfoque de "precisión sanitaria" permite reducir la tasa de infección de manera eficiente, minimizando la carga química en el ecosistema y protegiendo la biodiversidad al evitar impactos sobre especies no diana. Aunque estos resultados son preliminares y deben ser validados con muestreos más extensos, sugieren que la digitalización del sector ganadero es una herramienta de medicina preventiva de primer orden, capaz de anticipar riesgos epidemiológicos y mejorar la bioseguridad tanto animal como humana de forma sostenible y resiliente.

En este estudio piloto, los datos de geolocalización del ganado vacuno y equino criado en sistemas de ganadería extensiva resultaron totalmente satisfactorios para identificar los lugares adecuados para la presencia de vectores (Cantalapiedra et al., 2025). Este conocimiento se obtuvo mediante el uso de collares inteligentes RUMI®, un dispositivo que monitoriza a los animales en tiempo real, reconociendo todas sus actividades (alimentación, descanso, rumia, movimiento, etc.) y facilitando la gestión del rebaño y la toma de decisiones en la explotación para los ganaderos.

CONCLUSIONES

La integración de tecnologías de precisión basadas en Inteligencia Artificial y geolocalización representa una línea de investigación prometedora para la vigilancia entomológica en la ganadería extensiva, al facilitar la identificación de microhábitats donde la interacción entre el hospedador y el vector es presumiblemente más intensa. Los resultados preliminares de este estudio sugieren que el uso de mapas térmicos de actividad animal permite optimizar la captura de artrópodos de interés sanitario, tales como *I. ricinus*, *D. reticulatus*, *C. pipiens s.l.*, *Culicoides* spp. y *Stomoxys calcitrans*. No obstante, al tratarse de un trabajo inicial, es necesario realizar muestreos adicionales y estudios a mayor escala para confirmar la precisión de esta metodología y su consistencia en diferentes contextos ecológicos. Se concluye que el aprovechamiento de los datos de comportamiento animal se perfila como una herramienta complementaria de gran valor dentro del enfoque "Una Sola Salud" (One Health), con potencial para mejorar la eficiencia de los programas de vigilancia de enfermedades zoonóticas y vectoriales que afectan tanto a la sanidad animal como a la salud pública.

FINANCIACIÓN

Esta investigación ha sido financiada con el contrato 2025-CP063, suscrito entre la USC (Grupo de Investigación COPAR) y la Diputación Provincial de Lugo (Área de Rural, Vicepresidencia) (España) (Convenio: ACTIVIDADES E FUNCIONAMIENTO DO GRUPO DE INVESTIGACIÓN COPAR 2025).

BIBLIOGRAFÍA

- Becker, N., Petrić, D., Zgomba, M., Boase, C., Madon, M. B., Dahl, C., & Kaiser, A. (2020). Mosquitoes: Identification, Ecology and Control. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-11623-1>
- Cantalapiedra, J., López, E., Antelo, C., Rodríguez, C., Vaz, P., Camiña, M., Boso, D., Abreu, I., Cazapal, C., & Hernández, J. Á. (2025). GPS collars in the surveillance of disease-transmitting vectors. A pilot study.1, 313. En: Proceedings Book of the International Conference on Animal Breeding, Genetics, Ethics and Health (ICABGEH-25), p. 313
- Cazapal-Monteiro, C., Boso, D., Abreu, I., Camiña, M., Sanchís, J., Paz-Silva, A., Cardoso, L., Sánchez-Andrade, R., Arias, M. S., & Hernández, J. Á. (2025). Targeting the Risk of Diptera-Borne Zoonoses by a Sentinel Equestrian Centers Program. Pathogens, 14(7), 661. <https://doi.org/10.3390/pathogens14070661>
- Eckelkamp, E. A. (2019). Invited Review: Current state of wearable precision dairy technologies in disease detection. Applied Animal Science, 35(2), 209–220. <https://doi.org/10.15232/aas.2018-01801>
- Estrada-Peña, A., Mihalca, A. D., & Petney, T. N. (2018). Ticks of Europe and North Africa: A Guide to Species Identification. Springer International Publishing AG.
- Gunay, F., Picard, M., & Robert, V. (2016). Interactive Identification Key for Female Mosquitoes (Diptera: Culicidae) of Euro-Mediterranean and Black Sea Regions. International Journal of Infectious Diseases, 53, 110–111. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.11.277>

Kaur, D., & Virk, A. K. (2025). Smart neck collar: IoT-based disease detection and health monitoring for dairy cows. *Discover Internet of Things*, 5(1), 12. <https://doi.org/10.1007/s43926-025-00109-5>

Kleen, J. L., & Guatteo, R. (2023). Precision Livestock Farming: What Does It Contain and What Are the Perspectives? *Animals*, 13(5), 779. <https://doi.org/10.3390/ani13050779>

Lamanna, M., Bovo, M., & Cavallini, D. (2025). Wearable Collar Technologies for Dairy Cows: A Systematized Review of the Current Applications and Future Innovations in Precision Livestock Farming. *Animals*, 15(3), 458. <https://doi.org/10.3390/ani15030458>

Menezes, G. L., Mazon, G., Ferreira, R. E. P., Cabrera, V. E., & Dorea, J. R. R. (2024). Artificial intelligence for livestock: A narrative review of the applications of computer vision systems and large language models for animal farming. *Animal Frontiers*, 14(6), 42–53. <https://doi.org/10.1093/af/vfae048>

Newman, B. C., Sutton, W. B., Wang, Y., Schweitzer, C. J., Moncayo, A. C., & Miller, B. T. (2019). A standardized method for the construction of a tick drag/flag sampling approach and evaluation of sampling efficacy. *Experimental and Applied Acarology*, 79(3–4), 433–446. <https://doi.org/10.1007/s10493-019-00429-6>

Pena, M. V., Ramos, I. A., García, G. B., Pichel, E. Í., Monteiro, C. C., Hernández Malagón, J. Á., Silva, A. P., Sánchez-Andrade Fernández, R., & Arias Vázquez, M. S. (2025). Monitoring of questing tick species distribution in Galicia, north-western Spain, over a period of 5.5 years. *Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases*, 7, 100254. <https://doi.org/10.1016/j.crpvbd.2025.100254>

Rawlings, P. (1996). Clave de patrones alares de ceratopogónidos del género *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) en la Península Ibérica, para estudios epidemiológicos. *Graellsia*, 52, 57–71. <https://doi.org/10.3989/graellsia.1996.v52.i0.376>

Walker, A. R., Bouattour, A., Camicas, J. L., Estrada-Peña, A., Horak, I. G., Latif, A. A., Pegram, R. G., & Preston, P. M. (2003). Ticks of domestic animals in Africa: A guide to identification of species (2014th edn) [Book]. Bioscience Reports.

TABLAS Y FIGURAS



Figura 1 - Collar inteligente RUMI®.



Figura 2 - Heatmap que muestra las áreas donde los animales se encuentran más tiempo descansando o rumiando, dentro de una parcela delimitada.



Figura 3 - La recolección de garrapatas del medio se realizó mediante dragging.



Figura 4 - Las trampas CDC-UV hacen posible la captura de dípteros.



Figura 5 - La geolocalización de herbívoros facilitó la recogida de vectores garrapatas y dípteros en diferentes ubicaciones de la provincia de Lugo.

Inocuidade Ambiental de Hongos Parasiticidas Empleados en la Prevención de Infecciones Parasitarias

Izaro Zubiría Ibarguren¹,
Carlos Emiliano Magos Amado¹,
Joel Cuervo Suárez¹,
Jorge Alexander León González^{1,2},
Paula Mariño Faro¹,
João Lozano^{1,3,4},
Luís Manuel Madeira de Carvalho^{1,3,4},
María Sol Arias Vázquez¹,
Adolfo Paz Silva¹,
José Ángel Hernández Malagón^{1*},

¹ Grupo de Investigación COPAR (GI-2120), Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria, Universidade de Santiago de Compostela. Campus Terra, Lugo (España).

² Enfermedades Parasitarias / Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (UDCA). Bogotá (Colombia)

³ CIISA – Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Lisbon, (Portugal)

⁴ Associate Laboratory for Animal and Veterinary Sciences (AL4AnimalS), Lisbon, (Portugal)

*Autor Correspondente: joseangel.malagon@usc.es

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar la inocuidad ambiental de los hongos saprófitos *Mucor circinelloides* y *Duddingtonia flagrans* como alternativa al control químico de parásitos en producción animal, por medio de dos ensayos experimentales. En el primero, se pulverizaron soluciones con una mezcla de 10^6 esporas/mL de cada hongo sobre 20 bandejas con semillas de hierba gatera (*Nepeta cataria*), empleando 10 bandejas como testigos (agua). Se evaluó el desarrollo de las plantas y la posible aparición de anomalías cromáticas y morfológicas. En el segundo ensayo, la misma solución fúngica se pulverizó sobre placas de Petri con huevos (n=6), larvas (n=6) y adultos (n=6) de la lombriz roja de California (*Eisenia fetida*), disponiendo de grupos control idénticos. Se midió la tasa de supervivencia en cada estadio biológico. Los resultados mostraron una ausencia total de anomalías en el crecimiento de la hierba gatera, con tasas de desarrollo, coloración, tamaño y densidad de crecimiento equivalentes a los testigos. En cuanto a *E. fetida*, la supervivencia fue del 100% en todos los estadios, sin apreciarse efectos antagonistas. El ciclo de desarrollo no se vio alterado: los huevos eclosionaron en 18 ± 3 días, los juveniles pasaron a subadultos en 4 ± 3 días y alcanzaron el estadio adulto en 57 ± 5 días. Se concluye que la aplicación directa de una mezcla de esporas de *M. circinelloides* y *D. flagrans* es segura para el medio ambiente.

PALABRAS CLAVE

parasitosis, prevención, sostenibilidad, inocuidad, hongos

INTRODUCCIÓN

En la producción ganadera actual, el control de las parasitosis gastrointestinales representa uno de los pilares fundamentales para garantizar tanto la sanidad animal como la rentabilidad económica de las explotaciones. Las infecciones por helmintos no solo comprometen el bienestar de los animales, sino que derivan en importantes pérdidas productivas asociadas a la disminución de las tasas de crecimiento, la reducción en la producción de leche, lana y otros subproductos, y el aumento de la susceptibilidad a otras patologías.

Históricamente, la lucha contra estos patógenos se ha basado casi exclusivamente en la administración periódica de fármacos antihelmínticos. Sin embargo, el uso intensivo y, en ocasiones, indiscriminado de estas sustancias ha desencadenado la aparición de resistencias en las poblaciones parasitarias a nivel global. Este fenómeno afecta ya a las principales familias de compuestos, como los benzimidazoles, los imidazotiazoles y las lactonas macrocíclicas, lo que supone un desafío clínico de primer orden al verse drásticamente reducidas las opciones terapéuticas eficaces (Viña et al., 2022).

Ante esta situación, el sector ganadero se enfrenta a la necesidad técnica de implementar estrategias de control integrado que no dependan únicamente de la quimioterapia convencional. El control biológico mediante el empleo de microorganismos antagonistas surge como una alternativa científica sólida. A diferencia de los parasiticidas químicos, que actúan de forma sistémica sobre el hospedador, los agentes biológicos operan en el medio externo, específicamente en el pasto y las heces, que es donde reside la mayor parte de la población parasitaria en forma de fases infectivas.

El paso del tiempo y la investigación de campo han demostrado que los esquemas de control más eficaces son aquellos que integran de forma sinérgica los tratamientos farmacológicos con agentes preventivos biológicos (Do Carmo et al., 2025; Thamsborg et al., 1999). Entre estos últimos, destacan los hongos filamentosos saprófitos como *Mucor circinelloides* y *Duddingtonia flagrans*. Estos hongos actúan capturando o degradando las larvas y huevos de parásitos en el suelo, interrumpiendo así el ciclo de infección antes de que el ganado ingiera los patógenos durante el pastoreo. Con el objetivo de eliminar las etapas infecciosas parasitarias del entorno en el que se alimentan los caballos, se recomienda la rotación de pastos (J. Á. Hernández et al., 2018b; Singer et al., 2002). La rotación de pastos es una práctica en la que los animales se trasladan entre diferentes pastos, cada uno de los cuales tiene dos fases: pastoreo y descanso. Algunas estrategias de control biológico contra los estróngilos incluyen la utilización de hongos saprófitos del suelo como *D. flagrans* o *Monacrosporium thaumassium* (Tavela et al., 2013), que son capaces de crear trampas en su micelio donde las larvas son capturadas, inmovilizadas y finalmente digeridas (Zarrin et al., 2015). Al igual que ocurre con otros hongos ovicidas, *M. circinelloides* puede adherirse a la cubierta del huevo del parásito, penetrar en su interior y destruir el contenido interno. Se ha demostrado un efecto antagonista de *M. circinelloides* sobre los huevos de helmintos como *Fasciola hepatica* y *Ascaris suum*, que se eliminan en las heces del ganado vacuno y porcino, respectivamente (Cortiñas et al., 2015).

A pesar de que el perfil de seguridad de estos hongos ha sido evaluado con éxito en estudios de eficacia con rumiantes, donde se demostró su capacidad para reducir significativamente la carga de estróngilos en ovejas de pastoreo sin efectos adversos para los animales, es imperativo profundizar en su impacto sobre el ecosistema receptor. Es fundamental garantizar una transición hacia sistemas de producción plenamente sostenibles y respetuosos con el equilibrio edáfico. Por ello, el objetivo de este estudio es evaluar la inocuidad ambiental de una solución fúngica compuesta por esporas de *M. circinelloides* y *D. flagrans* sobre indicadores vegetales y fauna edáfica beneficiosa.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se realizó exclusivamente con especies vegetales e invertebrados no cefalópodos (*Eisenia fetida*), por tanto, los procedimientos no se encuentran sujetos al ámbito de aplicación del Real Decreto 53/2013 ni de la Directiva Europea 2010/63/UE sobre la protección de animales utilizados para fines científicos, no siendo necesaria la autorización previa de un comité de ética de experimentación animal. No obstante, todos los ensayos se realizaron bajo principios de buenas prácticas de laboratorio y respeto ambiental.

La investigación se desarrolló en las instalaciones del Grupo de Investigación COPAR (GI-2120), Departamento de Patología Animal de la Facultad de Veterinaria, Universidade de Santiago de Compostela (Lugo, España; 43°01'N, 7°33'W).

Se utilizaron esporas de las especies fúngicas saprófitas *Mucor circinelloides* y *Duddingtonia flagrans*, aisladas, caracterizadas y cultivadas previamente por el grupo de investigación COPAR (Figura 1). Es fundamental especificar que el empleo de clamidosporas (para ambos hongos) representa la forma de resistencia natural que permite a estos microorganismos sobrevivir a condiciones adversas, incluyendo el paso por el tracto gastrointestinal de herbívoros monogástricos y rumiantes (J. Á. Hernández et al., 2018a; Mendoza-de Gives et al., 2018; Voinot et al., 2020), y también de carnívoros (Viña et al., 2022). Los ensayos se realizaron bajo condiciones controladas de laboratorio, manteniendo una temperatura constante de 20±2°C y una humedad relativa del 70%.

Se establecieron dos modelos de ensayo independientes para evaluar la inocuidad de una solución fúngica compuesta por una mezcla de 10⁶ esporas de cada uno de los hongos mencionados, utilizada mediante la técnica de pulverización directa, simulando la dispersión natural o aplicada, sobre el terreno (Imágenes 1 y 2) (Lozano et al., 2024; Viña et al., 2020).

- Ensayo 1 (Seguridad vegetal): Se emplearon 20 bandejas con semillas de hierba gatera (*Nepeta cataria*). En 10 de ellas se pulverizó la solución fúngica, mientras que en los 10 restantes sirvieron como grupo control recibiendo únicamente agua destilada. Se evaluó de forma periódica el desarrollo vegetativo y la posible aparición de anomalías morfológicas o cromáticas.
- Ensayo 2 (Seguridad en fauna edáfica): Se empleó la lombriz roja de California (*Eisenia fetida*) en tres estadios biológicos: huevos, larvas y adultos. Se utilizaron 6 placas de Petri por cada estadio para el grupo de tratamiento (pulverizadas con la mezcla fúngica) y un número idéntico para el grupo control (agua destilada). Se monitorizó diariamente la tasa de supervivencia y la cronología del ciclo biológico, incluyendo la eclosión, el paso a subadulto y la madurez.

Los datos se presentaron como media ± desviación estándar. Se realizó un análisis descriptivo para comparar los parámetros de crecimiento vegetal y las tasas de supervivencia y tiempos de desarrollo de las lombrices entre los grupos tratados y control.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ensayo 1: Seguridad vegetal.

La evaluación de las bandejas con hierba gatera (*Nepeta cataria*) tratadas con la solución fúngica no reveló anomalías que pudieran relacionarse con la aplicación de la mezcla de esporas. Se observó que la densidad de crecimiento, el espesor y el tamaño de las plantas fueron equivalentes a los del grupo testigo. No se detectaron alteraciones en la coloración (clorosis o manchas) ni signos de fitotoxicidad. El ritmo de crecimiento fue uniforme en ambos grupos durante todo el periodo de observación. (Figura 3)

Ensayo 2: Seguridad en fauna edáfica.

En cuanto a la supervivencia de la lombriz roja de California (*Eisenia fetida*), los resultados mostraron una tasa de supervivencia del 100% en todos los estadios analizados (huevos, larvas y adultos), igualando los valores del grupo control. No se apreció ningún efecto antagonista derivado de la exposición a la mezcla de esporas de *M. circinelloides* y *D. flagrans* (Figura 4).

La cronología del desarrollo biológico de *E. fetida* tampoco presentó diferencias significativas entre grupos. Los tiempos medios registrados para completar las fases del ciclo fueron (Figura 4):

- Eclosión de huevos: 18 ± 3 días tras los cuales aparecieron los ejemplares juveniles.
- Paso a subadultos: se produjo en un periodo de 4 ± 3 días tras la eclosión.
- Madurez (adultos): los ejemplares alcanzaron el estadio adulto en un tiempo de 57 ± 5 días.

Finalmente, cabe destacar que no se detectó un desarrollo fúngico invasivo en las placas de Petri, lo que sugiere que el sustrato y los organismos presentes no estimulan un crecimiento descontrolado de las especies parasitcidas bajo las condiciones ensayadas.

DISCUSIÓN

La presente investigación evaluó la seguridad ambiental de los hongos filamentosos saprófitos *Mucor circinelloides* y *Duddingtonia flagrans* mediante su aplicación directa en modelos vegetales y de fauna edáfica. Los resultados obtenidos confirman que el empleo de una mezcla fúngica con una carga de 10^6 esporas de cada hongo no genera efectos fitotóxicos ni altera el ciclo biológico de organismos beneficiosos del suelo, confirmando los resultados previos observados mediante su administración por vía oral a diferentes especies animales mediante diversas formulaciones comestibles (J. Á. Hernández et al., 2018a; Viña et al., 2020, 2022; Voinot et al., 2020).

Un aspecto crítico de este estudio fue el método de exposición. A diferencia de las aplicaciones donde las esporas son ingeridas por el ganado para actuar dentro de la materia fecal, en este ensayo se optó por la pulverización directa de las estructuras de resistencia, como son las clamidosporas (Viña et al., 2020). Este procedimiento representa un escenario de máximo estrés ambiental, ya que sitúa al hongo en contacto inmediato con los tejidos vegetales y los diferentes estadios de los invertebrados. Esta información resulta esencial para considerar el empleo de estrategias sostenibles para el control de parásitos, puesto que el hecho de que no se detectaran anomalías bajo estas condiciones de contacto directo refuerza la hipótesis de que estas especies poseen un nicho ecológico altamente selectivo hacia los nematodos parásitos, careciendo de mecanismos de patogenicidad frente a organismos que no constituyen su objetivo (no son sus dianas).

La ausencia de alteraciones en el desarrollo de la hierba gatera (*Nepeta cataria*) es un hallazgo de gran relevancia práctica. Para que un agente de control biológico sea viable en condiciones de campo, debe demostrar que no interfiere con la fisiología de las especies vegetales que componen la base forrajera del ganado. Los datos indican que los hongos saprófitos evaluados no compiten de manera perjudicial con la microbiota asociada al crecimiento vegetal ni afectan a los parámetros morfológicos de las plantas, como el grosor, la densidad o la coloración.

Respecto a la fauna edáfica, la elección de la lombriz roja de California (*Eisenia fetida*) como indicador es fundamental, dado que se trata de un organismo estándar recomendado por organismos internacionales, como la OCDE (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos), para la evaluación de la toxicidad de sustancias en el suelo. Este invertebrado es extremadamente sensible a la presencia de xenobióticos y contaminantes químicos.

La supervivencia del 100% observada en todos los estadios (huevos, larvas y adultos) tras la exposición a la mezcla fúngica es un indicador robusto de su inocuidad. El hecho de que el ciclo biológico se mantuviera dentro de los rangos temporales normales (18 ± 3 , 4 ± 3 y 57 ± 5 días) refuerza la hipótesis de que *M. circinelloides* y *D. flagrans* actúan de forma selectiva, sin mostrar antagonismo hacia organismos que no constituyen su objetivo (no son su diana). Este grado de estabilidad en la cronología vital sugiere que la presencia de esporas no interfiere en los procesos metabólicos ni reproductivos de la macrofauna beneficiosa (J. Á. Hernández et al., 2018a; Voinot et al., 2020).

En definitiva, la seguridad ambiental demostrada con el empleo de estos hongos avala su potencial como una herramienta de prevención biotecnológica que permite avanzar hacia una producción ganadera donde la sanidad animal coexista en equilibrio con la biodiversidad del ecosistema edáfico.

CONCLUSIÓN

A partir de los resultados obtenidos en la presente investigación, se puede afirmar que el empleo de una mezcla fúngica de *Mucor circinelloides* y *Duddingtonia flagrans* no interfiere en la integridad de los ecosistemas evaluados. En primer lugar, se ha constatado la total inocuidad para las especies vegetales forrajeras, representadas por *Nepeta cataria*, la cual mantuvo un desarrollo vegetativo, coloración y densidad de crecimiento normales tras la aplicación de esporas. Del mismo modo, el estudio sobre la fauna edáfica confirma que la exposición a estos hongos no ejerce efectos antagonistas sobre la lombriz roja de California (*Eisenia fetida*), garantizando una supervivencia del 100% y la continuidad biológica de su ciclo vital en todos sus estadios. En definitiva, estos hallazgos avalan el uso de estos hongos saprófitos como una herramienta de prevención biológica sostenible y respetuosa con la biodiversidad en el entorno de la producción animal.

FINANCIACIÓN

Este estudio ha sido financiado parcialmente por el Proyecto FEADER 2022/017B - GRUPOS OPERATIVOS AEI 2022 (Axencia Galega da Calidade Alimentaria – AGACAL, Xunta de Galicia). Asimismo, ha contado con el apoyo del proyecto PID2020-120208RB-I00 (Agencia Estatal de Investigación, RETOS 2020; FEDER).

BIBLIOGRAFÍA

- Cortiñas, F. J., Cazapal-Monteiro, C. F., Hernández, J. A., Arroyo, F. L., Miguélez, S., Suárez, J., López De Arellano, M. E., Sánchez-Andrade, R., Mendoza De Gives, P., Paz-Silva, A., & Arias, M. S. (2015). Potential use of *Mucor circinelloides* for the biological control of certain helminths affecting livestock reared in a care farm. *Biocontrol Science and Technology*, 25(12), 1443–1452. <https://doi.org/10.1080/09583157.2015.1062843>
- Do Carmo, T. A., Fonseca, J. D. S., Braga, F. R., Paz-Silva, A., De Soutello, R. V. G., & De Araújo, J. V. (2025). Exploring the Use of Helminthophagous Fungi in the Control of Helminthoses in Horses: A Review. *Animals*, 15(6), 864. <https://doi.org/10.3390/ani15060864>
- Hernández, J. Á., Cazapal-Monteiro, C. F., Arroyo, F. L., Silva, M. I., Palomero, A. M., Paz-Silva, A., Sánchez-Andrade, R., & Arias, M. S. (2018a). Biological control of soil transmitted helminths (STHs) in a zoological park by using saprophytic fungi. *Biological Control*, 122, 24–30. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.04.005>

- Hernández, J. Á., Sánchez-Andrade, R., Cazapal-Monteiro, C. F., Arroyo, F. L., Sanchís, J. M., Paz-Silva, A., & Arias, M. S. (2018b). A combined effort to avoid strongyle infection in horses in an oceanic climate region: Rotational grazing and parasiticide fungi. *Parasites & Vectors*, 11(1), 240. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2827-3>
- Lozano, J., Cunha, E., Almeida, C., Nunes, M., Dias, R., Vicente, E., Sebastião, D., Henriques, S., Madeira De Carvalho, L., Paz-Silva, A., & Oliveira, M. (2024). Analyzing the safety of the parasiticide fungus *Mucor circinelloides*: First insights on its virulence profile and interactions with the avian gut microbial community. *Microbiology Spectrum*, 12(5), e04078-23. <https://doi.org/10.1128/spectrum.04078-23>
- Mendoza-de Gives, P., López-Arellano, M. E., Aguilar-Marcelino, L., Olazarán-Jenkins, S., Reyes-Guerrero, D., Ramírez-Vargas, G., & Vega-Murillo, V. E. (2018). The nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* reduces the gastrointestinal parasitic nematode larvae population in faeces of orally treated calves maintained under tropical conditions—Dose/response assessment. *Veterinary Parasitology*, 263, 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.10.001>
- Singer, J. W., Bamka, W. J., Kluchinski, D., & Govindasamy, R. (2002). Using the recommended stocking density to predict equine pasture management. *Journal of Equine Veterinary Science*, 22(2), 73–76. [https://doi.org/10.1016/S0737-0806\(02\)70092-0](https://doi.org/10.1016/S0737-0806(02)70092-0)
- Tavela, A. D. O., De Araújo, J. V., Braga, F. R., Da Silveira, W. F., Dornelas E Silva, V. H., Carretta Júnior, M., Borges, L. A., Araujo, J. M., Benjamin, L. D. A., Carvalho, G. R., & De Paula, A. T. (2013). Coadministration of sodium alginate pellets containing the fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacroporium thaumasium* on cyathostomin infective larvae after passing through the gastrointestinal tract of horses. *Research in Veterinary Science*, 94(3), 568–572. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2012.11.011>
- Thamsborg, S. M., Roepstorff, A., & Larsen, M. (1999). Integrated and biological control of parasites in organic and conventional production systems. *Veterinary Parasitology*, 84(3–4), 169–186. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(99\)00035-7](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(99)00035-7)
- Viña, C., Salmo, R., Pena, M. V., Palomero, A. M., Hernández, J. Á., Cazapal-Monteiro, C., Arias, M. S., Sánchez-Andrade, R., & Paz-Silva, A. (2022). A New Comestible Formulation of Parasiticide Fungi to Reduce the Risk of Soil-Transmitted Helminth Infections in a Canine Shelter. *Pathogens*, 11(11), 1391. <https://doi.org/10.3390/pathogens11111391>
- Viña, C., Silva, M. I., Palomero, A. M., Voinot, M., Vilá, M., Hernández, J. Á., Paz-Silva, A., Sánchez-Andrade, R., Cazapal-Monteiro, C. F., & Arias, M. S. (2020). The Control of Zoonotic Soil-Transmitted Helminthoses Using Saprophytic Fungi. *Pathogens*, 9(12), 1071. <https://doi.org/10.3390/pathogens9121071>
- Voinot, M., Cazapal-Monteiro, C., Hernández, J. Á., Palomero, A. M., Arroyo, F. L., Sanchís, J., Pedreira, J., Sánchez-Andrade, R., Paz-Silva, A., & Arias, M. S. (2020). Integrating the control of helminths in dairy cattle: Deworming, rotational grazing and nutritional pellets with parasiticide fungi. *Veterinary Parasitology*, 278, 109038. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109038>
- Zarrin, M., Rahdar, M., & Gholamian, A. (2015). Biological Control of the Nematode Infective larvae of Trichostrongylidae Family With Filamentous Fungi. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 8(3). <https://doi.org/10.5812/jjm.17614>

TABLAS Y FIGURAS

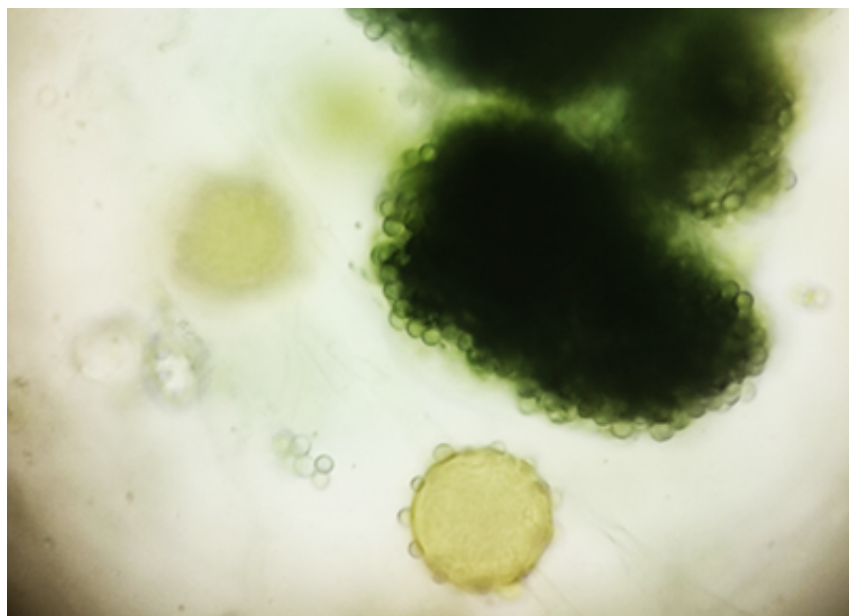


Figura 1 - Esporas de *M. circinelloides* (en negro) y *D. flagrans* (amarillo).

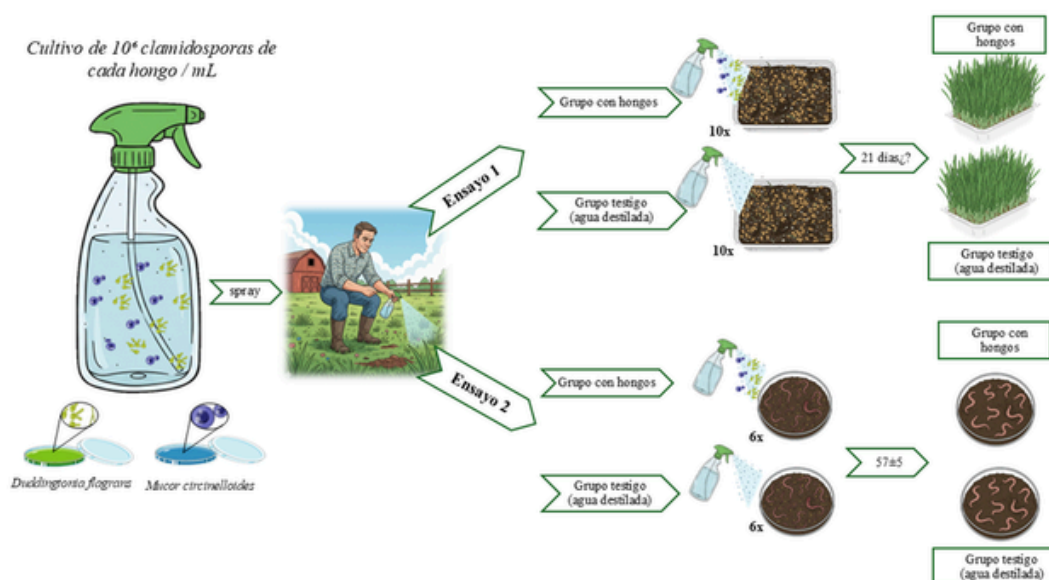


Figura 2 - Diseño del estudio realizado para confirmar la inocuidad del empleo de los hongos parasitófagos *M. circinelloides* y *D. flagrans*.

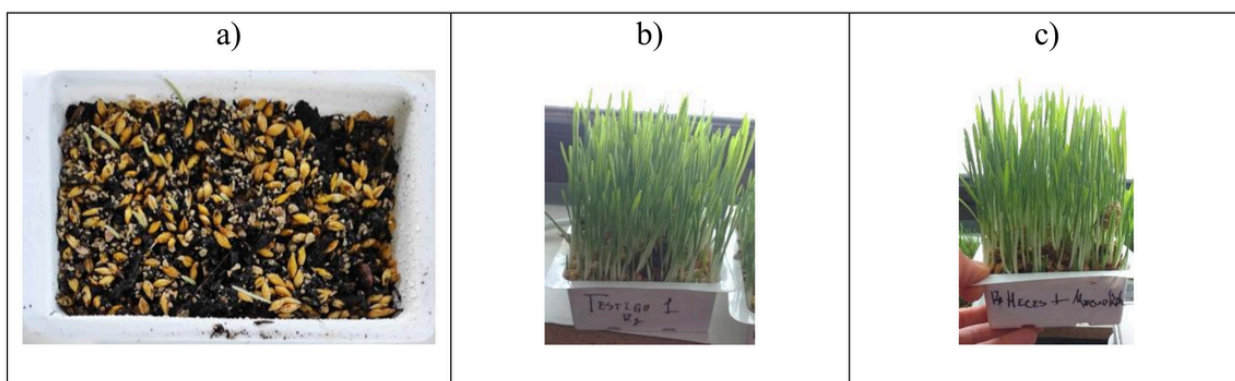


Figura 3 - Comparativa de crecimiento e inocuidad: (a) bandejas con semillas de *N. cataria*; (b) desarrollo de la planta en ausencia de hongos y (c) desarrollo de la planta en coexistencia con los hongos parasitófagos *M. circinelloides* y *D. flagrans*.

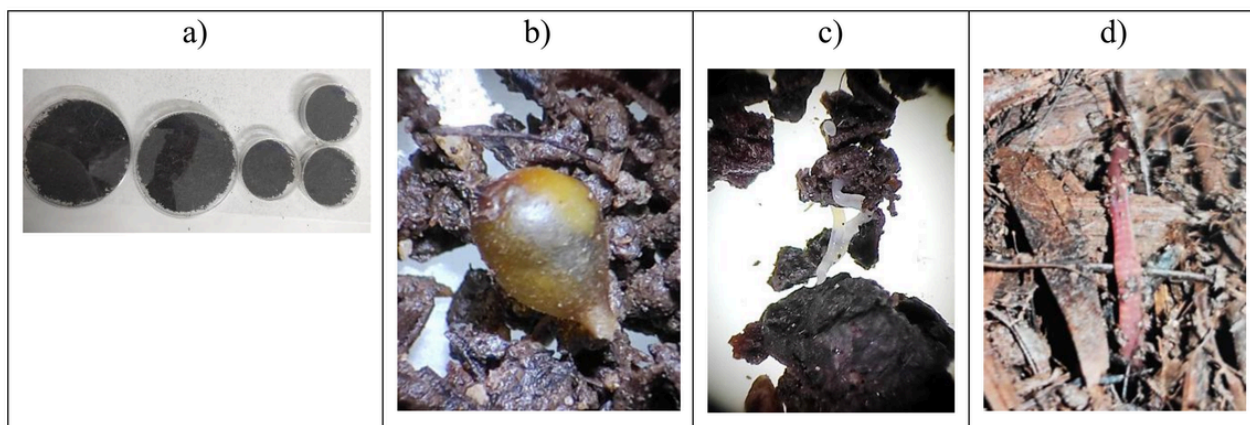


Figura 4 - En el presente estudio se pulverizaron clamidosporas de *M. circinelloides* y *D. flagrans* en placas Petri (a) que contenían huevos de *Eisenia fetida*(b), que no resultaron dañados, eclosionando y liberándose formas juveniles (c), que alcanzaron la fase adulta sin alteración (d).

Qualidade de Água em Exploração de Bovinos de Leite: Impacto na produção, reprodução e saúde dos animais

Vânia Resende^{1*},
Olga Moreira²,
José Manuel Martins¹,
Maria Raquel Lucas³,
Rui Branco⁴

1 MED (Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development & CHANGE – Global Change and Sustainability Institute, Institute for Advanced Studies and Research, Universidade de Évora, Pólo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora, Portugal.

2 INIAV (Instituto Nacional de Investigação Agrária), Quinta da Fonte Boa, Vale de Santarém, 2005-048 Santarém, Portugal.

3 CEFAGE (Centro de Estudos e Formação Avançada em Gestão e Economia), Palácio do Vimioso, Largo Marquês de Marialva, n.º 8, 7000-809 Évora, Portugal.

4 Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Campo Grande, 376, 1749- 024 Lisboa - Portugal

**Autor Correspondente: vania.resende@uevora.pt*

RESUMO

As alterações climáticas têm contribuído para a diminuição da disponibilidade de água e influenciam negativamente a sua qualidade. O presente estudo avaliou o efeito da qualidade da água sobre produção, reprodução e saúde de vacas leiteiras em uma exploração do Alentejo, com elevados níveis de manganês (>1500 µg/L). Foram constituídos dois grupos experimentais água tratada (<50 µg/L Mn) e água não tratada, equilibrados quanto à idade, número de partos e composição do leite. Foram recolhidos dados técnicos da exploração como: dados de produtividade, parâmetros reprodutivos, saúde, bem como amostras biológicas para análises de sangue, urina e leite. O tratamento da água reduziu significativamente o número de inseminações, o intervalo entre partos, a incidência de baixa condição corporal e problemas renais, enquanto a produção de leite apresentou tendência de aumento. O teor de gordura e proteína permaneceu constante. Os resultados evidenciam que a água de qualidade é determinante para otimizar a eficiência reprodutiva, a saúde e a produtividade em sistemas de produção leiteira.

PALAVRAS CHAVE

bovinos, água, manganês, produção, reprodução e saúde

ABSTRACT

Climate change has contributed to a decrease in water availability and negatively affects water quality. This study evaluated the effect of water quality on the production, reproduction, and health of dairy cows on a farm in Alentejo, with high levels of manganese ($>1500 \mu\text{g/L}$). Two experimental groups were formed: treated water ($<50 \mu\text{g/L Mn}$) and untreated water, balanced in terms of age, number of calvings, and milk composition. Technical data were collected from the farm, such as productivity data, reproductive parameters, health, as well as biological samples for blood, urine, and milk analysis. Water treatment significantly reduced the number of inseminations, the interval between calving, the incidence of poor body condition, and kidney problems, while milk production showed an upward trend. Fat and protein content remained constant. The results show that water quality is crucial for optimizing reproductive efficiency, health, and productivity in dairy production systems.

KEYWORDS

cattle, water, manganese, production, reproduction and health

INTRODUÇÃO

Os impactos potenciais das mudanças climáticas na atividade pecuária incluem efeitos diretos sobre a fisiologia, produção e comportamento animal (Henry et al., 2012), bem como efeitos indiretos mediados por alterações na disponibilidade de água e na quantidade e qualidade das culturas forrageiras e de concentrados (Craine et al., 2016). Para a Europa, as projeções climáticas indicam uma tendência de aquecimento, acompanhada por maior irregularidade nas precipitações e pelo aumento da frequência e intensidade de períodos secos e de secas extremas (Jacob et al., 2014).

A água é um nutriente fundamental para animais em lactação, desempenhando funções essenciais como a transferência de nutrientes, a excreção de produtos residuais, a digestão e a regulação da temperatura corporal (Golher et al., 2021). Apesar de ser o componente mais importante na alimentação das vacas, sua relevância só recentemente tem recebido destaque em textos especializados e fóruns sobre nutrição animal (Gomes, 2018).

O crescimento populacional mundial prevê aumento da procura por alimentos, o que implicará maior utilização da água na agricultura (Mancosu et al., 2015). Assim, a expansão do setor pecuário deve ser equilibrada com a gestão dos impactos ambientais e os riscos à segurança alimentar global (Opio et al., 2011).

Em explorações leiteiras, a qualidade da água de bebida é determinante para garantir consumo adequado pelos animais, influenciando diretamente o consumo de alimentos, o crescimento e a produção de leite (Beede, 2012; Gomes, 2018). Minerais como o manganês são essenciais em pequenas quantidades para todos os organismos vivos, pois intervêm em reações enzimáticas e metabólicas (U.S. Environmental Protection Agency, 2004). No entanto, concentrações excessivas de manganês na água de consumo podem reduzir a ingestão de água e de alimentos, provocando efeitos adversos sobre a saúde, a produção e a reprodução dos animais (Petersen et al., 2015). Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar o impacto da qualidade da água sobre a produção, reprodução e saúde de bovinos de leite em uma exploração localizada no Alentejo, onde foram detetados elevados níveis de manganês na água.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado numa exploração de Bovinos de leite no distrito de Évora, concelho de Montemor-o-Novo. Situada na região do Alentejo, onde o clima é considerado temperado, com invernos chuvosos e verões secos e quentes. Dada a localização da exploração, os recursos de água disponível para as atividades de vacaria e abeberamento dos animais são recursos próprios, nomeadamente a utilização de furos.

No final do verão de 2019, o furo superficial (21 metros de profundidade) localizado mais próximo da vacaria secou, sendo necessário proceder à sua substituição. O outro furo disponível, mais afastado das instalações, era profundo (138 metros) e após deposição, apresentava uma tonalidade mais escura no fundo dos bebedouros. As análises físico-químicas realizadas à água deste novo furo indicaram a presença de valores de manganês superiores a 1500 µg/L.

Para a realização deste estudo, obteve-se o parecer favorável do Órgão responsável pelo Bem-estar dos Animais da Universidade de Évora (ÓRBEA-UÉ). No entanto, parece não ser necessário efetuar pedido de ética para a realização deste estudo, uma vez que no Guia de Água de Qualidade Adequada na Alimentação Animal (DGAV rev. 2 – Fev 2014), os valores recomendados para parâmetros físico-químicos para o manganês na água (Mn) é < 4 mg/L.

Foi possível criar dois grupos experimentais de animais em produção. Um grupo de animais que consumia água tratada e um grupo de animais que consumiria água, diretamente do furo, por isso, sem tratamento.

Os grupos de animais foram equilibrados de acordo com a idade, o número de partos, teor butírico, teor de proteínas. Os grupos experimentais (n=15) estiveram nas mesmas condições: estábulo, alimentação, temperatura e humidade ambiente, mesmo número de bebedouros, mesmo espaço de manjedoura, mesmo plano profilático e sanitário (Figura 1). O fator de variação entre os grupos foi a concentração de Mn. O grupo com água tratada <50 µg/L (DGAV, 2014) e grupo água não tratada, com valores superiores a 1500 µg/L.

Foram recolhidos dados produtivos (produção e composição do leite), reprodutivos (intervalo entre partos, número de inseminações, mortalidade embrionária e programas de sincronização deaios), saúde (mastites, metrites, problemas renais e tratamentos), além de registros de vendas e mortalidade. Os programas informáticos utilizados foram o Bovinet e Delpro. O Bovinet caracteriza-se como uma ferramenta de gestão de dados zootécnicos, reprodutivos e sanitários, permitindo o acompanhamento individual e coletivo do rebanho, o registo de eventos produtivos e clínicos, bem como a geração de indicadores de desempenho. Já o DelPro configura-se como um sistema integrado de gestão, com elevada capacidade de colheita automática de dados provenientes de sala de ordenha, sensores e equipamentos de monitorização (coleiras), possibilitando análises em tempo real de produção, saúde e reprodução.

As amostras de sangue, urina e leite foram recolhidas para avaliação de indicadores fisiológicos, metabólicos e de qualidade do leite. No sangue, analisaram-se parâmetros como a glicose, ureia, creatinina, Alanina Aminotransferase (ALT), Aspartato Aminotransferase (AST), Aspartato Aminotransferase (ALP) e Mn, indicadores do estado energético, função hepática e renal, e disponibilidade de minerais essenciais. Na urina, mediram-se ureia, creatinina, Mn e ferro, parâmetros de função renal e equilíbrio mineral. No leite, determinaram-se concentrações de Mn, ferro, cálcio, microrganismos totais, teor butírico, teor proteico, contagem de células somáticas e ureia, indicadores da saúde da glândula mamária, qualidade do leite e estado nutricional das vacas.

As colheitas ocorreram ao longo de dois meses (abril e maio), permitindo monitorizar a variação desses parâmetros e sua relação com a produtividade e o bem-estar animal. As colheitas foram realizadas sempre no período da manhã, a fim de se evitar o stress térmico ocasionado pelo aumento da temperatura ao decorrer do dia. As amostras foram processadas nos laboratórios do DNATech e do INIAV.

Todos os dados são apresentados foram analisados com o software SPSS versão 30. A significância estatística da diferença entre as distribuições foi avaliada quanto à normalidade através do teste de Shapiro-Wilk, e a homogeneidade da variância foi avaliada através do teste de Levene's. As diferenças entre os grupos foram comparadas por meio de um teste t e Man-Whitney, com um nível de significância estabelecido para um intervalo de confiança de 95%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados apresentados na tabela 1, a idade média dos animais foi semelhante entre os grupos, com $4,82 \pm 0,68$ anos no grupo que recebeu água sem tratamento e $4,78 \pm 0,83$ anos, no grupo que recebeu água com tratamento. Isso indica que os grupos eram homogêneos quanto à faixa etária, o que reduz potenciais enviesamentos relacionados à idade na análise de desempenho e composição do leite.

A produção de leite aos 305 dias apresentou diferença entre os grupos, sendo em média $8.836,64 \pm 1.879,31$ kg para o grupo sem tratamento e $10.026,00 \pm 1.976,58$ kg para o grupo com tratamento. Essa diferença sugere que a melhoria na qualidade da água pode ter influenciado positivamente a produção leiteira, possivelmente por favorecer a ingestão de água e o estado nutricional das vacas, conforme relatado por Beede (2012) e Golher et al. (2021). A variabilidade observada, expressa pelo desvio padrão, indica que alguns animais apresentaram respostas maiores ou menores, mas a tendência geral aponta para um efeito benéfico do tratamento da água.

Em relação à composição do leite, o teor butíroso foi semelhante entre os grupos, com médias de $3,925 \pm 0,28\%$ no grupo sem tratamento e $3,935 \pm 0,41\%$ no grupo com tratamento. O teor proteico também não apresentou diferenças relevantes, com $3,50 \pm 0,19\%$ no grupo sem tratamento e $3,50 \pm 0,22\%$ no grupo com tratamento. Esses resultados estão condicionados às premissas escolhidas para equilibrar os grupos, mas vão de encontro aos estudos que apontam que a composição do leite é menos sensível a pequenas variações na ingestão de água, desde que as necessidades nutricionais gerais sejam atendidas (Al Sultan, 2023; Petersen et al., 2015).

Relativamente aos indicadores reprodutivos, apresentados na tabela 2, o número médio de inseminações por vaca apresentou diferença evidente entre os grupos. O grupo que recebeu água sem tratamento necessitou, em média, de $5,21 \pm 2,97$ inseminações, enquanto o grupo com água tratada apresentou apenas $2,80 \pm 1,52$ inseminações. Essa redução sugere que a melhoria na qualidade da água pode ter contribuído para um melhor desempenho reprodutivo, possivelmente influenciando positivamente o estado nutricional, o balanço energético e o ciclo éstrico das vacas, fatores diretamente relacionados com a fertilidade (Beede, 2012; Golher et al., 2021). O intervalo entre partos também foi significativamente menor no grupo com água tratada, com média de $410,53 \pm 52,92$ dias, em comparação com $539,00 \pm 93,83$ dias no grupo sem tratamento. A redução do intervalo entre partos é um indicador de maior eficiência reprodutiva, refletindo menores períodos de anestro e maior sucesso nas concepções subsequentes. Esses resultados indicam que a ingestão de água de melhor qualidade pode impactar diretamente a reprodução das vacas leiteiras, corroborando estudos que apontam que água limpa e adequada é essencial para manutenção da saúde, equilíbrio metabólico e desempenho reprodutivo do rebanho (Al Sultan, 2023; Petersen et al., 2015).

A análise dos indicadores de saúde, presentes na tabela 3, revelou diferenças marcantes entre os grupos. O número médio de animais com baixa condição corporal foi $0,86 \pm 1,03$ no grupo que recebeu água sem tratamento, enquanto no grupo com água tratada esse valor foi significativamente menor, $0,07 \pm 0,26$. Isso sugere que a melhoria na qualidade da água pode indicar um maior consumo de água e consequentemente ter contribuído para um melhor estado nutricional e manutenção do peso corporal adequado, fatores essenciais para o desempenho produtivo e reprodutivo das vacas (Beede, 2012; Golher et al., 2021).

De forma semelhante, o número de ocorrências de problemas renais foi maior no grupo sem tratamento ($1,14 \pm 1,66$) comparado ao grupo com água tratada ($0,13 \pm 0,35$). O mesmo padrão foi observado para o número de terapêuticas renais, com médias de $1,29 \pm 1,68$ no grupo sem tratamento e $0,13 \pm 0,35$ no grupo com tratamento. Esses dados indicam que o fornecimento de água de melhor qualidade pode reduzir a incidência de alterações renais e a necessidade de intervenções terapêuticas, refletindo um efeito positivo sobre a saúde geral do rebanho. Da mesma forma pode estar associado à diminuição do consumo de água por parte dos animais, o que por si só contribui para diminuição do equilíbrio hídrico/desidratação e consequentemente mau funcionamento renal.

Os resultados mostram a importância da monitorização da qualidade da água como fator crítico para a manutenção da saúde e bem-estar das vacas leiteiras, impactando diretamente tanto a condição corporal quanto a ocorrência de doenças renais. Isso está de acordo com estudos que demonstram que a ingestão de água limpa e balanceada em minerais reduz o risco de distúrbios metabólicos e melhora a eficiência produtiva e reprodutiva (Al Sultan, 2023; Petersen et al., 2015).

Quando se efetuou a comparação dos grupos experimentais, tabela 4, verificou-se que não existem diferenças significativas para parâmetros como a idade média dos animais, teor butíroso e teor proteico, indicando que os grupos eram homogêneos. Esses resultados indicam que a qualidade da água não teve efeito significativo sobre a composição química do leite durante o período avaliado.

A análise do efeito do tratamento da água sobre os parâmetros reprodutivos, presentes na tabela 5, mostrou que o número de inseminações foi significativamente menor no grupo com água tratada, com média de 11,53 e mediana de 2, em comparação com 18,71 e mediana de 4,5 no grupo sem tratamento ($p = 0,020$). Isso indica que a ingestão de água de melhor qualidade contribuiu para maior eficiência reprodutiva, possivelmente por melhorar o estado nutricional e metabólico das vacas (Beede, 2012; Golher et al., 2021).

Em relação à condição corporal, o grupo com água tratada apresentou menor incidência de animais com baixa condição corporal (média 11,83 / mediana 0,07) em comparação com o grupo sem tratamento (média 18,39 / mediana 0,86; $p = 0,008$). Esse resultado sugere que a melhoria na qualidade da água favoreceu o equilíbrio nutricional e manutenção da condição corporal adequada, que é crucial para desempenho produtivo e reprodutivo.

CONCLUSÃO

O tratamento da água apresentou efeitos positivos sobre a saúde, reprodução e condição corporal das vacas leiteiras. O grupo que recebeu água tratada apresentou menor número de inseminações, intervalo entre partos reduzido, menor incidência de baixa condição corporal e menos problemas renais, indicando maior eficiência reprodutiva e melhor estado de saúde. Embora o teor butíroso e proteico do leite tenha sido idêntico entre os grupos, conforme critério de inclusão dos animais, a produção total de leite foi maior no grupo tratado, refletindo a correlação entre quantidade de leite e teor de gordura. Esses resultados evidenciam que a qualidade da água influencia diretamente a eficiência reprodutiva, a saúde renal e a produtividade, reforçando a importância do tratamento da água como fator crítico para o bem-estar e desempenho em sistemas de produção leiteira.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento à proprietária da exploração que permitiu a recolha dos dados, agradecimento especial aos meus orientadores pelo acompanhamento, a toda a equipada do INIAV que colaborou na obtenção de resultados laboratoriais e à família e amigos pela paciência demonstrada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al Sultan, S. I. (2023). Impact of water quality on performance, health, and productivity in dairy cattle: A review. *Tikrit Journal of Agricultural Sciences*, 25(2), 6. <https://doi.org/10.25130/tjas.25.2.6>
- Beede, D. K. (2012). What will our ruminants drink? *Animal Frontiers*, 2(2), 36–43. <https://doi.org/10.2527/af.2012-0040>
- Craine, J. M., Angerer, J. P., Elmore, A. J., & Fierer, N. (2016). Continental-scale patterns reveal potential for warming-induced shifts in cattle diet. *PLoS ONE*, 11(8), e0161511. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161511>
- Direção-Geral de Alimentação e Veterinária. (2014). Guia de boas práticas: Água de qualidade adequada para a alimentação animal. DGAV.
- U.S. Environmental Protection Agency. (2004). Drinking water health advisory for manganese (EPA-822-R-04-003). Office of Water, Health and Ecological Criteria Division. <http://www.epa.gov/safewater/>

Gomes, M. J. (2018). Importância da quantidade e da qualidade da água na alimentação da vaca leiteira. Departamento de Zootecnia, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. EuroDairy Workshop Efficient use of water on dairy farming, Póvoa de Varzim, Portugal, 18–19 June 2018.

Golher, D. M., Patel, B. H. M., Bhoite, S. H., Syed, M. I., Panchbhai, G. J., & Thirumurugan, P. (2021). Factors influencing water intake in dairy cows: A review. *International Journal of Biometeorology*, 65, 617–625. <https://doi.org/10.1007/s00484-020-02038-0>

Henry, B., Charmley, E., Eckard, R., Gaughan, J. B., & Hegarty, R. (2012). Livestock production in a changing climate: Adaptation and mitigation research in Australia. *Crop and Pasture Science*, 63(3), 191–202. <https://doi.org/10.1071/CP11169>

Jacob, D., Petersen, J., Eggert, B., Alias, A., Christensen, O. B., Bouwer, L. M., Braun, A., Colette, A., Déqué, M., Georgievski, G., Georgopoulou, E., Gobiet, A., Menut, L., Nikulin, G., Haensler, A., Hempelmann, N., Jones, C., Keuler, K., Kovats, S., ... Yiou, P. (2014). EURO-CORDEX: New high-resolution climate change projections for European impact research. *Regional Environmental Change*, 14(2), 563–578. <https://doi.org/10.1007/s10113-013-0499-2>

Mancosu, N., Snyder, R. L., Kyriakakis, G., & Spano, D. (2015). Water scarcity and future challenges for food production. *Water*, 7(3), 975–992. <https://doi.org/10.3390/w7030975>

Opio, C., Gerber, P., & Steinfeld, H. (2011). Livestock and the environment: Addressing the consequences of livestock sector growth. *Advances in Animal Biosciences*, 2(3), 601–607. <https://doi.org/10.1017/S204047001100286X>

Petersen, M. K., Muscha, J. M., Mulliniks, J. T., Waterman, R. C., Roberts, A. J., & Rinella, M. J. (2015). Sources of variability in livestock water quality over 5 years in the Northern Great Plains. *Journal of Animal Science*, 93(4), 1792–1801. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8028>

TABELAS E FIGURAS

Figuras

96



Figura 1 - Identificação dos grupos experimentais e respetivas instalações.

Tabelas

Tabela 1 - Análise estatística descritiva dos grupos experimentais relativamente aos dados dos animais e qualidade de leite.

		Média	Desvio padrão	Erro Padrão	Mínimo	Máximo
Idade do Animal (anos)	Grupo água sem Tratamento	4,821	6,750	1,804	38	60
	Grupo água com Tratamento	4,780	8,343	2,154	33	63
	Total	4,800	7,483	1,390	33	63
Produção de Leite 305d (kg)	Grupo água sem Tratamento	883,664	1,879,307	502,266	5884	12023
	Grupo água com Tratamento	1,002,600	1,976,583	510,352	6483	12849
	Total	945,183	1,989,733	369,484	5884	12849
Teor Butiroso %	Grupo água sem Tratamento	39,250	27,815	7,434	356	439
	Grupo água com Tratamento	39,353	41,113	10,615	344	495
	Total	39,303	34,707	6,445	344	495
Teor Proteico %	Grupo água sem Tratamento	34,957	18,981	5,073	317	388
	Grupo água com Tratamento	35,033	22,164	5,723	310	387
	Total	34,997	20,323	3,774	310	388

Tabela 2 - Análise estatística descritiva dos grupos experimentais relativamente aos dados reprodutivo.

		Média	Desvio padrão	Erro Padrão	Mínimo	Máximo
Número de Inseminações	Grupo água sem Tratamento	52,143	296,592	79,268	200	1,000
	Grupo água com Tratamento	28,000	152,128	39,279	100	700
	Total	39,655	259,784	48,241	100	1,000
Intervalo entre Partos	Grupo água sem Tratamento	53,900	93,828	25,077	377	730
	Grupo água com Tratamento	41,053	52,918	13,663	307	520
	Total	47,255	98,771	18,341	307	730

Tabela 3 - Análise estatística descritiva dos grupos experimentais relativamente aos dados de saúde.

		Média	Desvio padrão	Erro Padrão	Mínimo	Máximo
Nº Fraca, baixa condição corporal	Grupo água sem Tratamento	86	1,027	275	0	3
	Grupo água com Tratamento	7	258	67	0	1
	Total	45	827	154	0	3
Nº Problemas renais	Grupo água sem Tratamento	114	1,657	443	0	5
	Grupo água com Tratamento	13	352	91	0	1
	Total	62	1,265	235	0	5
Nº Terapêutica Renal	Grupo água sem Tratamento	129	1,684	450	0	5
	Grupo água com Tratamento	13	352	91	0	1
	Total	69	1,312	244	0	5

Tabela 4 - Comparação da idade, teor butíroso, teor proteico e intervalo entre partos dos grupos experimentais.

Variável	Grupo água Sem tratamento	Grupo água Com tratamento	p-valor
Idade (anos)	4,82 ± 0,68	4,78 ± 0,83	885
Teor butíroso (%)	3,93 ± 0,28	3,94 ± 0,41	938
Teor proteico (%)	3,50 ± 0,19	3,50 ± 0,22	922
Intervalo entre partos (dias)	539 ± 93,8	410,5 ± 52,9	<0,001

Tabela 5 - Comparação dos dados produtivos, reprodutivos e saúde dos dois grupos experimentais.

Variável	Grupo água Sem tratamento (N=14)	Grupo água Com tratamento (N=15)	Direção do efeito	p-valor (Mann-Whitney)
Número de inseminações	18,71 / mediana 4,5	11,53 / mediana 2	↓ grupo tratado	0,020*
Baixa condição corporal	18,39 / 0,86	11,83 / 0,07	↓ grupo tratado	0,008*
Problemas renais	17,57 / 1,14	12,60 / 0,13	↓ grupo tratado	0,046*
Terapêutica renal	18,11 / 1,29	12,10 / 0,13	↓ grupo tratado	0,020*
Produção de leite 305d (kg)	12,50 / 8836	17,33 / 10026	↑ grupo tratado	127

REVISTA
PORTUGUESA DE
ZOOTECNIA



APZ