

UFRRJ

INSTITUTO DE VETERINÁRIA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

DISSERTAÇÃO

**ASPECTOS CLÍNICOS, COMPORTAMENTAIS E METABÓLICOS DE VACAS E
NOVILHAS SUBMETIDAS AO USO DE OCITOCINA EXÓGENA**

Janne Paula Neres de Barros

2013



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**ASPECTOS CLÍNICOS, COMPORTAMENTAIS E METABÓLICOS DE VACAS E
NOVILHAS SUBMETIDAS AO USO DE OCITOCINA EXÓGENA**

JANNE PAULA NERES DE BARROS

Sob a Orientação da Professora
Rita de Cássia Campbell Machado Botteon

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração Ciências Clínicas.

Seropédica, RJ

Março de 2013

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

JANNE PAULA NERES DE BARROS

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, na área de Concentração em Ciências Clínicas.

PROJETO DE DISSERTAÇÃO APROVADO EM ____/____/____.

Rita de Cássia Campbell Machado Botteon, Dr. Sc. - UFRRJ
Orientadora

João Telhado Pereira, Dr. Sc. - UFRRJ

Patrícia Cristina Lisbôa da Silva, Dr. Sc. – UERJ

Cícero Araújo Pitombo, Dr.Sc. – UFF

"Aprendi com as Primaveras a me deixar cortar para poder voltar sempre inteira." Cecília Meireles

Dedico,

A *minha mãe*, pela presença incondicional mesmo que distante fisicamente. O seu amor, paciência, carinho, palavras de incentivo, e broncas: obrigada!

Ao *meu pai*, pelo amor!

Aos *animais*, que por eles cheguei até aqui!

AGRADECIMENTOS

A *Deus* por absolutamente tudo!

A minha orientadora *Prof. Rita Botteon* por ter me aceito como estagiária há cinco anos e desde então tem me mostrado um outro lado da pesquisa, a busca pelo conhecimento de si próprio através dos questionamentos e dúvidas. Cada bronca e palavra de incentivo foram devidamente aceitas em favor da busca pelo crescimento.

A *minha família* pelas palavras de incentivo, pelo carinho e amor.

Ao *professor Paulo Botteon* pelos seus ensinamentos estatísticos e caronas (um dia meu labirinto vai se acostumar às curvas da estrada!).

Ao *Edilton* por ceder e aceitar uma mudança na rotina do manejo de sua propriedade.

Ao *Carlinhos* por participar ativamente do desenvolvimento do trabalho, sem a sua ajuda no manejo com os animais teria sido difícil. Afinal, conhece cada vaca pelo nome e é capaz descrever o seu histórico sem nenhuma anotação!

Ao *Gilmar* e o *Batista* pelo auxílio na ordenha.

A *dona Marília* pelo carinho e por me receber tão bem em sua casa; a *Vanda* pelo cuidado do café todas as manhãs.

Aos meus irmãos (via família Botteon): *Ana Paula Marques* pelo incentivo, carinho e idas e voltas (ainda desço a Serra dirigindo!) a Fumaça. *Bruno Spíndola* por ter sido meu braço direito na condução do trabalho com as novilhas; *Érica Bertha* no processamento laboratorial e na tentativa de manejar as novilhas (você consegue!); *Renata Lanna, Natália Lôres* e *Isabela Mannes* pela amizade.

Ao *prof. Fábio Scott* por ceder os animais e o local para desenvolvimento de parte do meu trabalho.

Ao *Reginaldo* no manejo diário, sem folgas, com as novilhas, bem como ao *Edimar* e ao *Inocêncio*.

As colegas do mestrado *Juliana Macedo* e *Andresa Guimarães* pelos hemogramas semanais.

As alunas de iniciação: *Flávia Marota* pela iniciativa e criatividade e *Rafaela* pelo auxílio nas coletas. E a estagiária *Fernanda* por participar não somente na semana, mas aos finais de semana.

Aos colegas veterinários patologistas *Diego Dias, Renata Assad* e *Pedro Ivan* pelas análises bioquímicas.

A todos os meus amigos, em especial *Andréa Lima, Lidiane Picoli, Monique Lambert* e *Thiago Costa*, que participaram com palavras de apoio, muito obrigada!

RESUMO

BARROS, Janne Paula Neres. **Aspectos clínicos, comportamentais e metabólicos de vacas e novilhas submetidas ao uso de ocitocina exógena**. 2013. 112p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

O uso de ocitocina (OT) durante a ordenha de vacas mestiças, em substituição ao bezerro tornou-se comum e em muitas propriedades a OT é utilizada praticamente em todas as vacas “para facilitar a descida do leite e aumentar a produção” sem nenhum critério técnico. Assim, objetivou-se avaliar no Experimento 1: o comportamento, a produção e os indicadores metabólicos e de estresse em vacas com duas ordenhas diárias, sem a presença do bezerro, em propriedades nas quais a OT é aplicada no início e no meio da ordenha de todos os animais. Foram avaliadas oito vacas em quatro tratamentos e oito repetições. Os tratamentos foram instituídos com base na forma de aplicação da OT na propriedade (0,3 mL ou 3 UI, intravenosa no início e no meio de cada ordenha) e como controle a solução fisiologia (SF). A produção de leite (litros) e o leite residual foram avaliados em intervalos de três dias. Os animais foram submetidos à observação visual início e fim da ordenha para a avaliação do comportamento. Amostras de sangue foram coletadas no início e final de cada tratamento para determinação dos níveis de cortisol, glicose, colesterol, triglicérides, albumina e ureia, além da atividade sérica da AST. Quanto ao volume de leite coletado a utilização de duas doses de OT (início e meio da ordenha) foi equivalente à OT somente no meio da ordenha. A aplicação de SF nos dois momentos resultou em menor volume de leite coletado. Isso pode demonstrar que a produção de leite é influenciada pela OT exógena com possibilidade de dependência. O leite residual foi menor no tratamento OT/OT com diferença significativa ($p \leq 0,01$) em relação ao SF/SF e OT/SF. Reatividade foi mais observada no tratamento OT/OT e mais frequente no momento da aplicação da OT e/ou SF, o que sugere desconforto e estresse associado a este processo. O cortisol foi elevado em todos os tratamentos e sem diferença significativa ($p \geq 0,05$), sendo mais elevados nos tratamentos com OT/SF e OT/OT.

No Experimento 2 buscou-se avaliar o ganho de peso, o comportamento através dos níveis de cortisol e os indicadores metabólicos de 12 novilhas ($\frac{1}{2}$ a $\frac{3}{4}$ Zebu x Red Angus) em dois tratamentos diários: 20 UI/dia, intramuscular ($n=6$), dosagem utilizada para obter o leite residual, e 2 mL de SF 0,85%, intramuscular. O ganho de peso foi baixo em ambos os grupos sem diferença significativa com o uso ou não de OT. O cortisol sérico em ambos os tratamentos e em todos os momentos foi elevado, no entanto, observou-se uma diferença significativa entre os grupos na semana 4 indicando o efeito modulador da OT na resposta neuroendócrina ao estresse. Dos parâmetros bioquímicos avaliados em ambos os experimentos, com exceção das novilhas tratadas com OT que onde houve diferença significativa da semana 3 em relação as demais nos níveis de colesterol, os demais parâmetros não apresentaram diferença significativa entre tratamentos. Novos estudos devem ser conduzidos para obter uma melhor compreensão de como a OT atua no metabolismo de ruminantes.

Palavras chaves: Comportamento, Etologia, Manejo, Ordenha, Vacas leiteiras, Novilhas.

ABSTRACT

BARROS, Janne Paula Neres. **Clinical, behavioral and metabolic aspects in cows submitted to use exogenous oxytocin.** 2013. 112p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

The use of oxytocin (OT) during milking crossbred cows, replacing the calf became common and many properties in the OT is used in virtually all cows "to facilitate milk letdown and increase production" without any criteria technician. Thus, it was evaluated in Experiment 1: behavior, production and metabolic indicators and stress in cows milked twice daily without the presence of the calf, in properties where OT is applied at the beginning and middle of milking all animals. We assessed eight cows in four treatments and eight replications. The treatments were established based on the form of application of the OT in the property (3 mL or 0.3 IU intravenously at the beginning and middle of each milking) and how to control the physiological solution (PS). The milk yield (L) and the residual milk were evaluated every three days. The animals were subjected to visual observation beginning and end of milking to evaluate performance. Blood samples were collected at the beginning and end of each treatment to determine the levels of cortisol, glucose, cholesterol, triglycerides, albumin and urea, and serum activity of AST. As the volume of milk collected using two doses of OT (beginning and middle of milking) was equivalent to OT at the middle of milking. The application of SF in the two periods resulted in lower volume of milk collected. It can be shown that milk production is influenced by exogenous OT with the possibility of addiction. The residual milk was lower in the treatment OT / OT with a significant difference ($p \leq 0.01$) compared to SF / SF and OT / SF. Reactivity was observed in the treatment OT / OT and more frequent at the time of application of OT and / or SF, which suggests discomfort and stress associated with this process. Cortisol was elevated in all treatments and no significant difference ($p \geq 0.05$), being higher in the treatment with OT / SF and OT / OT.

In Experiment 2 we sought to assess weight gain, behavior through the levels of cortisol and metabolic indicators of 12 heifers ($\frac{1}{2}$ to $\frac{3}{4}$ Red Angus x Zebu) in two daily treatments: 20 IU / day, intramuscular (n = 6) dosage used for the residual milk, and 2 ml of 0.85% SF intramuscular. The weight gain was low in both groups with no significant difference with or without use of OT. Serum cortisol in both treatments and at all times has been high, however, there was a significant difference between groups at week 4 indicating the modulating effect of OT in the neuroendocrine response to stress Of the biochemical parameters in both experiments, aside from heifers treated with OT that where significant difference from week 3 compared with other levels of cholesterol, other parameters showed no significant difference between treatments. Further studies should be conducted to gain a better understanding of how the OT works on the metabolism of ruminants.

Key words: Behavior, Ethology, Management, Milking, Dairy cow, Heifers

LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

AG	Ácidos graxos
ACTH	Hormônio Adrenocorticotrópico
AGNE	Ácidos graxos não esterificados
β HB	Beta hidroxibutirato
CCS	Contagem de células somáticas
CEC	Conselho das Comunidades Europeias
CHCM	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
CL	Corpo Lúteo
cm	Centímetros
CMT	California Mastit Test
CRH	Hormônio Liberador de Corticotrofina
CT	Controle
dL	Decilitros
DMCV	Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária
ECC	Escore de Condição Corporal
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FC	Frequência cardíaca
FR	Frequência respiratória
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
HHA	Hipotálamo-Hipófise-Adrenal
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INF- τ	Interferon thau
IV	Instituto de Veterinária
Kg	Quilograma
mcg / μ g	Micrograma
mg	Miligrama
mL	Mililitros
ng	Nanograma
NUS	Nitrogênio ureico do sangue
OT	Ocitocina

OTR	Receptor de OT
P4	Progesterona
PG	Prostaglandina
PGF2 α	Prostaglandina 2 α
RJ	Rio de Janeiro
RNAm	Ácido ribonucleico mensageiro
SF	Solução Fisiológica
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
UI	Unidade Internacional
VCM	Volume Corpuscular Médio
%	Porcentagem
°C	Graus Centígrados

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Sistema Nervoso Autônomo e eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal, sistemas responsáveis pela resposta ao estresse.	08
Figura 02: Vacas mestiças sendo ordenhadas manualmente, sem a presença do bezerro novembro de 2012, Resende, RJ.	26
Figura 03: Área de espera anexa ao curral. Manejo antes do tronco de contenção. Vacas mestiças Zebu X Red Angus, outubro/novembro 2012, UFRRJ.	28
Figura 04: Área destinada ao manejo do gado mestiço Zebu x Red Angus (curral), demonstrando o cocho com volumoso (capim picado) e concentrado, outubro/novembro 2012, UFRRJ.	28
Figura 05: Tronco de contenção em área anexa ao curral, outubro/novembro 2012, UFRRJ.	29
Figura 06: Área destinada ao manejo dos animais (curral) anexo ao tronco de contenção e local fornecimento de alimentação suplementar, outubro/novembro 2012, UFRRJ.	29
Figura 07: Balança eletrônica (KM3) utilizada para pesagem dos animais, outubro/novembro 2012, UFRRJ.	30
Figura 08: Vaca mestiça ruminando enquanto aguardava a ordenha na área de espera, outubro/novembro 2012, Resende, RJ.	34
Figura 09: Vaca mestiça durante a ordenha, reativa no momento da aplicação de ocitocina, outubro/novembro 2012, Resende, RJ.	36
Figura 10: Valores médios de triglicerídeos séricos (mg/dL) em vacas mestiças Holandês x Gir em lactação segundo os tratamentos com ocitocina (OT) e/ou solução fisiológica (SF), no início e/ou meio da ordenha, Resende, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.	42
Figura 11: Valores médios de glicose sanguínea em vacas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), intramuscular, outubro/novembro 2012.	58
Figura 12: Valores médios de colesterol sanguíneo em vacas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), intramuscular, outubro/novembro 2012	59
Figura 13: Valores médios de triglicerídeos em vacas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), intramuscular, outubro/novembro 2012	60
Figura 14: Valores médios da enzima aspartato aminotransferase (AST) em vacas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), intramuscular, outubro/novembro 2012	62

LISTA DE QUADROS

Quadro 01: Indicadores de bem-estar animal, direcionados as vacas leiteiras, segundo aspectos clínicos, fisiológicos e comportamentais (SANT'ANNA; PARANHOS DA COSTA, 2010).	07
Quadro 02: Valores séricos de cortisol em bovinos em diferentes condições de estudo.	09
Quadro 03: Tratamentos instituídos por grupos de acordo com o momento da ordenha e dose de OT (OT) por ordenha e diária (total) em unidades internacionais (UI).	25
Quadro 04: Frequência de observações dos comportamentos vocalização, micção, defecação e reatividade segundo os tratamentos com ocitocina (OT) e/ou soro fisiológico (SF) no início e/ou no meio (início/meio) da ordenha em vacas mestiças.	35
Quadro 05: Média, desvio padrão e valores máximos e mínimos de cortisol sérico em relação aos tratamentos e dose diária total de ocitocina (OT) em unidades internacionais (UI).	37
Quadro 06: Manejo e ganho semanal (em kg) de novilhas mestiças Zebu x Red Angus tratados com ocitocina (20 UI – 2,0 mL), por via intramuscular e grupo controle (soro fisiológico – 2,0 mL, intramuscular).	47
Quadro 07: Valores médios, máximos, mínimos e o desvio padrão do cortisol sérico em µg/dL em novilhas mestiças Zebu x Red Angus segundo os tratamentos.	48
Quadro 08: Parâmetros e valores de acordo com Smith (2006) para os constituintes do hemograma em ruminantes.	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Produção de leite (média em litros), na ordenha da manhã, da tarde, diária e leite residual total (volume e porcentagem) em vacas segundo os tratamentos instituídos e dose diária total de ocitocina (OT) em unidades internacionais (UI).	32
Tabela 02: Média dos valores séricos de albumina, colesterol, triglicérides, proteína plasmática total (PPT), ureia, e aspartato aminotransferase (AST) em vacas mestiças em lactação antes do início dos tratamentos com ocitocina e/ou solução fisiológica, Resende, Rio de Janeiro, outubro de 2012.	38
Tabela 03: Média, desvio padrão, variância e valores máximos e mínimos de proteínas plasmáticas totais (PPT - g/dL) em vacas mestiças em lactação segundo os tratamentos com ocitocina e/ou solução fisiológica, antes e no meio da ordenha, Resende, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.	39
Tabela 04: Média, desvio padrão, variância e valores máximos e mínimos de albumina (g/dL) em vacas mestiças em lactação segundo os tratamentos com ocitocina e/ou solução fisiológica, antes e no meio da ordenha, Resende, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.	40
Tabela 05: Média, desvio padrão, variância e valores máximos e mínimos de colesterol (mg/dL) em vacas mestiças em lactação segundo os tratamentos com ocitocina e/ou solução fisiológica, antes e no meio da ordenha, Resende, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.	41
Tabela 06: Média, desvio padrão, variância e valores máximos e mínimos de triglicérides (mg/dL) em vacas mestiças em lactação segundo os tratamentos com ocitocina e/ou solução fisiológica, antes e no meio da ordenha, Resende, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.	41
Tabela 07: Média, desvio padrão, variância e valores máximos e mínimos de ureia (mg/dL) em vacas mestiças em lactação segundo os tratamentos com ocitocina e/ou solução fisiológica, antes e no meio da ordenha, Resende, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.	43
Tabela 08: Média, desvio padrão, variância e valores máximos e mínimos da atividade sérica da enzima aspartato aminotransferase (AST – U/L) em vacas mestiças em lactação segundo os tratamentos com ocitocina e/ou solução fisiológica, antes e no meio da ordenha, Resende, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.	44
Tabela 09: Manejo e peso semanal (em kg) de novilhas mestiças Zebu x Red Angus, tratadas com ocitocina (20 UI – 2,0 mL), por via intramuscular e grupo controle (soro fisiológico – 2,0 mL, intramuscular).	46
Tabela 10: Valores médios da contagem de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina e índices hematimétricos (VCM, CHCM) em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), via intramuscular. Seropédica, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.	51
Tabela 11: Valores de leucócitos, Infócitos e plaquetas em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução	51

fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), via intramuscular. Seropédica, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.

Tabela 12: Média, desvio padrão (DP) e valores máximos e mínimos das proteínas plasmáticas totais (PPT) em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), via intramuscular. Seropédica, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012. 53

Tabela 13: Média, desvio padrão (DP) e valores máximos e mínimos de albumina (mg/dL) em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), via intramuscular. Seropédica, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012. 54

Tabela 14: Média, desvio padrão (DP) e valores máximos e mínimos de ureia (mg/dL) em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), via intramuscular. Seropédica, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012. 56

Tabela 15: Média, desvio padrão (DP) e valores máximos e mínimos da glicose em novilhas mestiças mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), via intramuscular. Seropédica, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012. 57

Tabela 16: Média, desvio padrão (DP) e valores máximos e mínimos do colesterol sérico em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), via intramuscular. Seropédica, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012. 58

Tabela 17: Média dos valores séricos de triglicerídeos em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), via intramuscular. 60

Tabela 18: Média, desvio padrão e valores mínimos e máximos da atividade sérica da enzima aspartato aminotransferase (AST) em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), via intramuscular. 61

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Pecuária Leiteira no Brasil	3
2.2. Comportamento - Conceitos	3
2.3. Liderança e Hierarquia em Rebanhos Bovinos	4
2.4. Interação Homem-Animal	5
2.5. Bem-estar Animal	5
2.6. Parâmetros indicativos de bem-estar animal.....	7
2.6.2. Manejo	11
2.7. Ocitocina (OT)	13
2.7.1. Metabolismo	13
2.7.2. Funções	13
A) Ejeção do leite	14
B) Parto e atividade reprodutiva.....	15
C) Comportamento e relações sociais	17
D) Ocitocina e estresse.....	18
E) Condição corporal e metabolismo energético	18
F) Outras funções	19
2.8. Perfil Metabólico.....	19
2.8.1. Indicadores do metabolismo proteico	20
A) Ureia	20
B) Albumina	21
C) Proteínas plasmáticas totais (PPT)	21
2.8.2. Indicadores do metabolismo energético	22
A) Beta-hidroxibutirato no sangue e leite (βHB).....	22
B) Colesterol.....	22
C) AGNE (Ácidos graxos não-esterificados).....	23
D) Glicose	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	24
EXPERIMENTO 1	24
3.1. Efeito da aplicação de ocitocina exógena durante a ordenha sobre a produção de leite, cortisol sérico e metabolismo de vacas mestiças	24
3.1.1. Local, período e caracterização da propriedade.....	24
3.1.2. Animais	24
3.1.3. Delineamento experimental	25
3.1.4. Produção de leite.....	26
3.1.5. Comportamento	26
3.1.6. Ocitocina, cortisol e bioquímica sérica	26
3.1.7. Análise Estatística.....	27
EXPERIMENTO 2	27
3.2. Efeito da ocitocina exógena sobre o ganho de peso e metabolismo de novilhas	27
3.2.1. Local, Período e Animais	27
3.2.2. Animais e Manejo	27
3.2.3. Comportamento	30
3.2.4. Ganho de Peso	30
3.2.5. Ocitocina, cortisol e bioquímica sérica	30
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1. Efeito da aplicação de ocitocina durante a ordenha sobre a produção de leite, cortisol sérico e metabolismo de vacas mestiças	32

4.1.1. Produção de leite.....	32
4.1.2. Comportamento	34
4.1.3. Cortisol sérico	36
4.1.4. Bioquímica sérica.....	38
A) Proteínas plasmáticas	38
B) Albumina	39
C) Colesterol.....	40
D) Triglicerídeos	41
E) Ureia.....	42
F) Aspartato aminotransferase (AST)	43
EXPERIMENTO 2	44
4.2. Efeito da OT exógena sobre o ganho de peso e metabolismo de novilhas	44
4.2.1. Comportamento	44
4.2.2. Ganho de Peso	45
4.2.3. Cortisol sérico	47
4.2.4. Hemograma	50
Tabela 11: Valores de leucócitos, Infócitos e plaquetas em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), via intramuscular. Seropédica, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.	51
4.2.5. Bioquímica Sérica	52
A) Proteínas plasmáticas totais (PPT)	52
B) Albumina	53
C) Ureia	55
D) Glicose	56
F) Triglicérides.....	59
G) Aspartato aminotransferase (AST)	60
5. CONCLUSÕES.....	63
6. APENDICE	91
6.1. Ficha de Avaliação das Condições de Produção	91
6.2. Formulário de avaliação de comportamento, funções fisiológicas e produção.....	95

1 INTRODUÇÃO

A Medicina Veterinária tem fundamentado o entendimento da qualidade de vida na saúde animal e humana. Com esta visão os preceitos básicos da Medicina Veterinária envolvem os métodos de diagnóstico, tratamento e prevenção de doenças.

No que se refere aos bovinos à visão é voltada para a produtividade. Especialmente na bovinocultura leiteira, as vacas são exigidas ao máximo, visando alta eficiência com a maior produção diária e por lactação. Na busca pela máxima eficiência produtiva as vacas leiteiras são constantemente desafiadas, sendo submetidas a situações de extremas exigências nutricionais, sanitárias, produtivas e reprodutivas.

No contexto da alta eficiência produtiva, o entendimento de que um animal tem uma ótima qualidade de bem-estar se estiver saudável (livre de doença) e bem alimentado pode ser questionado. Vacas leiteiras de alta produção em sistemas intensivos apresentam graus variados de estresse, embora bem alimentadas e aparentemente saudáveis. Na ausência de doença evidente, o bem-estar nem sempre é inerente. O bem-estar ruim não é só uma consequência da saúde ruim, mas também a causa do comprometimento da saúde de um animal e mesmo do rebanho.

Mundialmente o mercado consumidor começou a exigir além da qualidade sanitária, um sistema de produção que respeite o animal e lhe dê garantias de bem-estar durante toda a cadeia produtiva.

Durante a ordenha o objetivo é obter o máximo de leite no menor tempo possível. Uma vez que a ejeção do leite é desencadeada, o leite é expulso para fora do alvéolo pelas células mioepiteliais (musculares) e forçado para dentro do sistema de ductos. A ocitocina é um hormônio produzido pelo sistema nervoso durante a preparação do úbere, que, se bem aproveitado proporciona a ejeção do leite quase que involuntariamente. Para esta finalidade a vaca deve receber os sinais adequados do ambiente e ser manejada de maneira cuidadosa. A ordenha deve ser rápida e ser processada de tal forma que não provoque trauma para o úbere e estresse ao animal. Quando eventos incômodos ocorrem durante a ordenha (dor, excitação ou medo), o reflexo de ejeção pode ser inibido e somente uma fração do leite pode ser coletada.

Em muitas propriedades é comum o uso de ocitocina para estimular a “descida” do leite de vacas manejadas sem a presença do bezerro. Em outras os produtores mantêm vacas mestiças amamentando seus bezerros, pois, acreditam que produzem mais leite do que quando ordenhadas sem o bezerro, e mesmo nestas condições é comum o uso de ocitocina durante a ordenha. Mas, há de se ressaltar fazendas onde a ordenha ocorre sem o uso de ocitocina com ou sem o bezerro. Atualmente, uso de ocitocina “para facilitar a descida do leite e aumentar a produção” tornou-se comum e este hormônio é utilizado praticamente em todas as vacas na linha de ordenha, e nenhum critério técnico é utilizado para fundamentar esta prática.

Estudos brasileiros são conflitantes quanto aos efeitos e a necessidade da aplicação de ocitocina durante a ordenha de vacas mestiças, em substituição a mamada do bezerro. A princípio, tanto a ocitocina quanto a mamada do bezerro apresentam vantagens e desvantagens. Na maioria dos casos, é provável que o manejo esteja incorreto. Aponta-se como grande problema do uso da ocitocina o estresse pelo qual as vacas passam na aplicação da ocitocina. A situação inversa também pode ser verdadeira: a necessidade do uso de ocitocina devido ao desconforto e condição insatisfatória de bem-estar levando ao estresse e dificuldade na eliminação do leite.

Considerando a alta exigência metabólica em vacas leiteiras e os efeitos dos sistemas intensivos de produção objetivou-se no Experimento 1 avaliar o comportamento, a produção e os indicadores de estresse e metabólicos em vacas com duas ordenhas diárias, sem a presença do bezerro, em propriedades nas quais a aplicação de ocitocina é realizada no início e no meio

da ordenha de todos os animais; e no Experimento 2 avaliar o ganho de peso e parâmetros do metabolismo energético e proteico de novilhas não lactantes com injeções diárias de ocitocina em dose semelhante à usada em vacas em lactação para a mensuração de leite residual.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Pecuária Leiteira no Brasil

Mundialmente a pecuária leiteira vem apresentando grandes avanços em produção, tecnologia e qualidade. No Brasil, especialmente nos últimos 12 anos a produção total de leite cresceu 49,42%. O volume médio por propriedade passou de 28 litros/dia para 52 litros/dia. Pelos resultados obtidos, a importância que a atividade leiteira adquiriu no País é incontestável, tanto no desempenho econômico como na geração de empregos (CARVALHO; CARNEIRO, 2009).

Duas características são marcantes na pecuária de leite brasileira: a produção ocorre em todo o território nacional e não existe um padrão de produção. A heterogeneidade dos sistemas de produção é muito grande e ocorre em todas as unidades da federação. Estima-se que 2,3% das propriedades leiteiras são especializadas e atuam como empresa rural eficiente. Esses sistemas de produção respondem por aproximadamente 44% do total de leite do País. Por outro lado, 90% dos produtores que respondem por apenas 20% da produção total operam com baixo volume diário de produção (40-50 litros/dia), produção sazonal e pouco uso de tecnologias (ZOCCAL; CARNEIRO, 2008).

2.2. Comportamento - Conceitos

Muitos fatores influenciam o comportamento animal dentro de um sistema de criação. E este pode ser entendido de diferentes formas segundo o ramo da ciência que trata da abordagem biológica no estudo do comportamento animal, a Etologia (Paranhos da Costa, 1987)

Há forte influência das condições ecológicas, sendo o próprio animal um fator importante na definição dessas condições, dado que através de seu comportamento ele pode provocar alterações importantes no seu ambiente. Dessa forma, comportamento e bem-estar animal estão intimamente ligados.

Comportamento é todo e qualquer ato executado por um animal, seja este ato perceptível ou não ao universo sensorial humano. Tudo que um animal faz ou deixa de fazer (*Animal behaviour*) pode ser um indicador do bem-estar, principalmente no tocante a alimentação e sociabilidade (WEARY et al., 2009). Del-Claro (2004) defende que mesmo quando um animal aparentemente não está fazendo nada, esse "não fazer nada", também representa um comportamento e tem sua função. De acordo com Paranhos da Costa e Rosa (2009) mesmo a imobilidade absoluta é um comportamento.

Como descrito por Paranhos da Costa et al. (2002), há mais para entender sobre o comportamento animal do que estudar apenas as relações de causa e efeito (mecanismos de controle interno, padrões inatos de comportamento e a habilidade para aprender). Deve-se considerar também que o comportamento de um animal não é a soma de manifestações isoladas, mas um conjunto solidário e interdependente destas em todos os níveis do organismo. Assim, o comportamento é caracterizado como toda resposta muscular ou secretória a estímulos no ambiente interno e externo dos animais (KANDEL, 1976).

Os avanços nas áreas de genética, nutrição e manejo (incluindo instalações e equipamentos) levaram a produção animal a estabelecer o conceito de indústria da produção animal. Paranhos da Costa (2006) ressaltou que essas condições têm proporcionado ganhos econômicos e sociais importantes, mas também têm resultado em problemas quanto ao bem-estar dos animais de produção, principalmente em sistemas intensivos de produção.

Erros constantes nos sistemas de criação interferem nas interações entre os animais. Dentre eles destaca-se a utilização de grandes grupos em espaços reduzidos aumentando a possibilidade de violação do espaço individual e dificuldade no reconhecimento da hierarquia social. Isso leva a interações agonísticas e estresse social (SCHAKE; RIGGS, 1970; ARAVE et al., 1974; HAFEZ; BOUISSOU, 1975; KONDO et al., 1984) com diminuição do desempenho individual (CZAKO, 1983) e comportamentos anômalos.

O estudo etológico é uma das bases para o bem-estar animal onde se considera a percepção biológica, para cada espécie, sua relação com o meio em que vive e a expressão dos seus instintos e características naturais, estando este em seu meio originário ou não (PARANHOS DA COSTA et al., 2002).

2.3. Liderança e Hierarquia em Rebanhos Bovinos

Os bovinos são animais gregários que necessitam viver em grupos nos quais utilizam mecanismos de organização como forma de controle social. Um mecanismo de organização social da espécie baseia-se na familiaridade e na competição entre os animais que resultam na liderança e na hierarquia de dominância respectivamente. A dominância diferencia da liderança porque é produto de interações agressivas entre indivíduos de um mesmo grupo ao competirem por recursos ambientais como comida, área de descanso, água, e outros numa definição de prioridade sobre eles (PARANHOS DA COSTA; NASCIMENTO JR., 1986).

As interações sociais envolvem muitos fenômenos comportamentais que são dependentes do espaço e recursos disponíveis e da densidade populacional. A definição do espaço individual possui importante papel no arranjo social do rebanho (PARANHOS DA COSTA; COSTA E SILVA, 2007).

Estudos de Wagnon et al. (1966) e Le Neindre (1989) demonstraram haver diferenças entre raças nas relações sociais que determinam a hierarquia e a dominância em bovinos.

A dominância é uma questão importante na vida social dos bovinos, principalmente quando mantidos em sistemas intensivos de criação ou em condições pouco apropriadas às suas necessidades (REINHARDT; REINHARDT, 1981). Considerando a estrutura social, em rebanhos bovinos em geral a liderança é exercida pelas vacas mais velhas, que necessariamente não estão no topo da dominância. A liderança, portanto, tem origem matrilinear e conseqüentemente não envolve atitudes agressivas (STRICKLIN; KAUTZ-SCANAVY, 1984).

Paranhos da Costa e Cromberg (1997) ressaltaram a necessidade de cautela na formação dos lotes para evitar estresse social constante. Se a formação de grupos for feita de acordo com o interesse humano, com o objetivo de facilitar o manejo, a organização social pode ser afetada, o que pode resultar em estresse e aumento de agressividade (SCHAKE; RIGGS 1970, ARAVE et al., 1974, KONDO et al., 1984), além de dificultar a visualização dos problemas do sistema de criação (REINHARDT; REINHARDT, 1975).

Também o número de animais do grupo ou rebanho, especialmente se muito grande pode resultar em violação do espaço individual, dificuldade de reconhecer e memorizar sua posição na hierarquia social, e como consequência há redução do desempenho individual, e os animais desenvolvem distúrbios comportamentais (SYME; SYME, 1979), o que reflete a condição de bem-estar ruim desses animais (HURNIK, 1992).

Uma vez definida a hierarquia social em um grupo a ordem é relativamente estável e as posições respeitadas, disputas e desavenças são raras e as categorias são mantidas com simples ameaças. Os atritos aparecerão quando animais estranhos forem introduzidos no grupo (PARANHOS DA COSTA; COSTA E SILVA, 2007).

2.4. Interação Homem-Animal

No contexto da produção animal, a relação entre o homem e o animal deve ser destacada, uma vez que para racionalizar os métodos de criação são desenvolvidas e implementadas técnicas de manejo, alimentação e instalações que interferem (e também dependem) do comportamento. Assim, a etologia pode mostrar o caminho para a racionalização da criação animal, principalmente em sistema intensivos de produção (PARANHOS DA COSTA, 1987).

As causas e efeitos da interação entre humanos e animais estão sendo desvendadas aos poucos. É sabido que é através das diversas maneiras de se interagir (tátil, visual, olfativa, gustativa e auditiva) e do momento em que a interação ocorre que há a formação do relacionamento, o que possibilita a aproximação ou afastamento das partes (KROHN et al., 2001). A intimidade desse relacionamento pode ser avaliada e medida pelas respostas comportamentais do animal ao tratador (HEMSWORTH; COLEMAN, 1998), o que pode alterar e indicar o grau de bem-estar animal.

Como citado por Hemsworth e Coleman (1998) muitos pesquisadores não reconhecem o relacionamento entre humanos e bovinos como valioso para ambas as partes; consideram que estes animais são tratados puramente como objetos de trabalho, máquinas de produção que não se alteram com o comportamento dos humanos. Apesar dessa visão mecanicista, humanos e bovinos apresentam vários momentos de interação durante as atividades de rotina (ordenha, alimentação e outras práticas zootécnicas), com reflexos no comportamento, fisiologia e produtividade animal (HEMSWORTH et al., 1993).

Breuer et al. (2000) relataram que o tipo de interação no momento da ordenha pode causar mudanças comportamentais, e interações negativas resultam em maior reatividade, apesar de não terem evidenciado alterações relevantes na produção de leite. Hemsworth et al. (2000) não compartilharam tal conclusão, visto que a interação negativa durante a ordenha foi negativamente correlacionada com a produção de leite e teores de proteína e gordura.

Considerando a possibilidade de aumentar a produtividade através de interação positiva entre ordenhadores e vacas leiteiras Peters et al. (2010) avaliaram os efeitos do manejo, aversivo e não aversivo, na condução de vacas em lactação e não encontraram diferenças significativas para os componentes do leite e contagem de células somáticas em diferentes manejos. Contudo, o manejo aversivo alterou o comportamento das vacas na sala de ordenha, com redução na produção de leite de vacas com idade média de 60 meses.

2.5. Bem-estar Animal

Atualmente na pecuária leiteira além dos estudos para incremento na produtividade, nutrição e qualidade do leite, um aspecto importante a ser considerado é o bem-estar dos animais em atenção as crescentes pressões do mercado consumidor.

Bem-estar é um termo de uso corrente em várias situações, e utilizado para animais, incluindo-se o ser humano. Seu significado geralmente não é preciso. Entretanto, um conceito claramente definido é necessário para a utilização científica e profissional do conceito.

Para a língua portuguesa bem-estar é o “estado de satisfação física ou moral; conforto” (FERREIRA, 2004). Para a ciência, bem-estar é o “estado de um indivíduo em relação as suas tentativas de se adaptar ao seu ambiente” (BROOM; JOHNSON, 1993).

De acordo com Hurnik (1992), bem-estar animal é o “estado de harmonia entre o animal e seu ambiente, caracterizado por condições físicas e fisiológicas ótimas e alta qualidade de vida”. Assim, como proposto por Donald Broom (1991) bem-estar não é um atributo dado pelo homem aos animais, mas uma qualidade inerente a estes. Posteriormente,

Broom e Johnson (1993) definiram bem-estar como “o estado de um indivíduo em relação as suas tentativas de se adaptar ao ambiente”.

Segundo Broom e Molento (2004) para que o conceito de bem-estar possa ser empregado em situações diversas ou avaliado em uma situação específica, deve ser medido de forma objetiva. Assim, o bem-estar deve ser definido de forma que permita pronta relação com outros conceitos, tais como: necessidades, liberdades, felicidade, adaptação, controle, capacidade de previsão, sentimentos, sofrimento, dor, ansiedade, medo, tédio, estresse e saúde. Neste contexto, ausência de sofrimento não é sinônimo de bem-estar. Duncan (1993) defende que o bem-estar é reduzido quando os animais têm sentimentos negativos, ou seja, sofrem, e inclui entre estes sentimentos frustração, medo, dor, solidão, aborrecimento e talvez até sentimentos que não ocorrem em seres humanos. Do ponto de vista do bem-estar, não importa se frustração, medo e dor em animais são semelhantes às sensações em humanos, mas o quão negativas são do ponto de vista do animal (HÖTZEL; MACHADO FILHO, 2004).

Com o objetivo de formular um conceito de bem-estar mais amplo Fraser et al. (1997) basearam-se em três pontos, que são questões éticas levantadas pela sociedade em relação a qualidade de vida dos animais. Sendo o primeiro a possibilidade dos animais se sentirem bem, livres de medo e dor e com experiências prazerosas. Em segundo, seria necessário satisfazer as condições para o bom funcionamento do organismo, ou seja, boas condições de saúde, crescimento, fisiologia e comportamento. E, por último, os animais deveriam ter vidas naturais, ou seja, deveriam poder viver e desenvolver-se da maneira para a qual estão adaptados. Teoricamente, segundo Fraser (1999) se incluirmos estas questões éticas na concepção do termo bem-estar animal, serviremos melhor à sociedade, que procura apoio na ciência para materializar seus anseios em propostas e promover mudanças.

De acordo com Hötzel e Machado Filho (2004) os principais motivos que levam as pessoas a se preocuparem com o bem-estar de animais de fazenda são inquietações de origem ética, o efeito potencial que este possa ter na produtividade e qualidade dos alimentos e, por último, as conexões entre bem-estar animal e comercialização internacional dos seus produtos de origem animal. Todos têm relevância e não devem ser considerados contraditórios.

Na própria agricultura orgânica, que prega bem-estar animal como condição básica através do respeito à integridade, harmonia e individualidade dos animais (ALROE et al., 2001; LUND; ROCKLINSBERG, 2001) existem problemas de bem-estar. Estes estão principalmente relacionados à limitação no uso de medicamentos para controlar doenças e inadequação dos genótipos ao ambiente de criação (CABARET, 2002; HAROARSON, 2001; VAARST et al., 2001) e devem ser superados através de desenvolvimento tecnológico específico para fundamentar a proposta adequadamente.

Segundo Broom (1991), Mench (1993) e Zanella (1996) pelos processos adaptativos serem complexos, é necessário abordar o tema bem-estar sobre um aspecto multidisciplinar, levando em consideração às características comportamentais, a produtividade, as preferências dos animais pelos componentes do ambiente, as variáveis fisiológicas e a sanidade.

Quando a situação de bem-estar é crítica torna-se simples reconhecê-la e corrigi-la, no entanto, não há conhecimento científico suficiente para orientar as ações de aprimoramento do bem-estar, surgindo dois grandes desafios: identificar bons indicadores de estados positivos de bem-estar e encontrar soluções para resolver problemas menos evidentes.

Broom e Molento (2004) ressaltam que para avaliação do bem-estar é necessário o pleno conhecimento da biologia do animal. Cientificamente utilizam-se além das características biológicas, os comportamentos anômalos, a atividade adrenal, o grau de imunossupressão e a incidência ou severidade de ferimentos e doenças para mensurar o bem-estar (BROOM, 1991; MENCH, 1993).

Waiblinger et al. (2001) e Sant'Anna et al. (2008) incluem na avaliação de bem-estar alterações clínicas como lesões de pele, escore de condição corporal, distúrbios do sistema

locomotor, taxa de mortalidade, contagem de células no leite, nível de higiene e limpeza do animal. Costa e Silva (2009) acrescentaram o tempo de ruminância e de descanso na avaliação de bem-estar de bovinos. Alguns desses indicadores foram revisados por Sant’Anna e Paranhos da Costa (2010) e organizados quanto aos aspectos clínicos, fisiológicos e comportamentais (Quadro 01).

Quadro 01: Indicadores de bem-estar animal, direcionados às vacas leiteiras, segundo aspectos clínicos, fisiológicos e comportamentais (SANT’ANNA; PARANHOS DA COSTA, 2010).

ASPECTOS	INDICADORES
Clínicos	<ul style="list-style-type: none"> - Ocorrência de mastite clínica e subclínica - Ocorrência de problemas locomotores - Claudicação - Escore de condição corporal de todas as vacas - Ocorrência de problemas respiratórios - Carga parasitária - Ferimentos e machucados
Fisiológicos	<ul style="list-style-type: none"> - Ocorrência de estresse metabólico de origem nutricional - Nível de cortisol plasmático e no leite - Níveis de serotonina alterados - Secreção láctea - Quantidade de leite residual
Comportamentais	<ul style="list-style-type: none"> - Agressividade exagerada - Frequência de disputas no cocho (cabeçadas) - Reatividade durante a ordenha - Teste de distância de fuga - Estereotípias (morder instalações) - Ruminância

2.6. Parâmetros indicativos de bem-estar animal

Bem-estar de um indivíduo é entendido como seu estado em relação às suas tentativas de adaptar-se ao seu ambiente (BROOM, 1986). O conceito refere-se a uma escala variando de muito bom a muito ruim. Entretanto, em ambos os casos, além das mensurações diretas deve-se tentar medir os sentimentos inerentes ao estado do indivíduo. Alterações em alguns fatores fisiológicos como frequência cardíaca e respiratória, ruminância, defecação e micção podem indicar bem-estar pobre. Na mensuração do comportamento animal são relevantes os aspectos fisiológicos, os comportamentais e os relativos à saúde e condições ambientais.

2.6.1. Fatores fisiológicos

Situações de estresse, definido como um estado antecipado ou real de ameaça ao equilíbrio do organismo e a reação do mesmo, que visa restabelecer o equilíbrio através de um complexo conjunto de respostas fisiológicas e comportamentais, são comuns em vacas leiteiras e têm sérios efeitos sobre a sua saúde, a produtividade e o conforto. As respostas ao estresse são mediadas pelo sistema nervoso autônomo (SNA) e pelo eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), com ações complementares através de todo o organismo. O SNA é o responsável pela resposta mais imediata ao estressor. Suas duas partes, simpático e

parassimpático, provocam alterações rápidas nos estados fisiológicos através da inervação dos órgãos alvos (Figura 01).

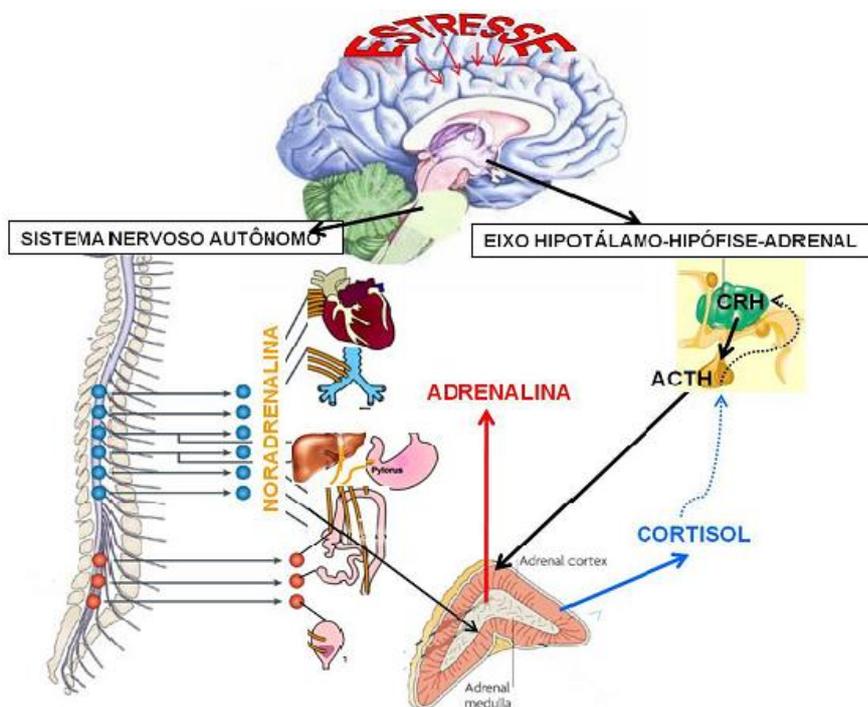


Figura 01: Sistema Nervoso Autônomo e eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal, responsáveis pela resposta ao estresse (Noções de Fisiologia. Disponível em: www.lifesavers.com.br).

A inervação simpática pode rapidamente (em segundos) aumentar a frequência cardíaca e a pressão arterial através da liberação de noradrenalina e adrenalina (ULRICH-LAI; HERMAN, 2009). Assim, aumento nas frequências cardíaca (FC) e respiratória (FR) sem a presença de alterações patológicas, atitudes humanas aversivas ou outra ação que leve medo aos animais, demonstra uma falha na interação animal-ambiente evidenciando uma condição de estresse (BROOM; JOHNSON, 1993).

Por outro lado, o estresse ativa o eixo HHA e resulta na elevação dos níveis de glicocorticóides circulantes. A exposição ao estressor ativa o hipotálamo que secreta o hormônio liberador de corticotrofina (*corticotropin-releasing hormone* – CRH). Esse hormônio vai agir na hipófise anterior promovendo a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (*adrenocorticotrophic hormone* - ACTH), que por sua vez vai atuar no córtex da glândula adrenal iniciando a síntese e liberação de glicocorticóides.

O pico dos níveis plasmáticos de glicocorticóides ocorre dezenas de minutos após o início do estresse. Os glicocorticóides são secretados de uma forma pulsátil, seguindo um ritmo circadiano, sobre o qual se sobrepõe uma explosão secretória por ocasião do estresse. Em bovinos o valor basal de cortisol sanguíneo varia entre 0,4 a 1,3 $\mu\text{g/dL}$ (KANEKO et al., 1997) ou entre 0,45 e 0,75 $\mu\text{g/dL}$ (RADOSTITIS et al., 2002). Outros autores relatam valores divergentes nos níveis de cortisol segundo a raça e a condição de manejo em que os animais foram avaliados (Quadro 02).

Quadro 02: Valores séricos de cortisol em bovinos em diferentes condições de estudo.

Autores	Valores de cortisol	Condição do estudo
Hein e Allrich (1992)	Média 12,4 ng/mL	Colheita de sangue e administração de veículo aquoso intravenoso.
Lefcourt e Elsasser (1995)	0,93 – 1,33 ng/mL	Bezerros Red Angus X Hereford.
Lensink et al. (2000)	17,7 ng/mL controles 18,7 ng/mL Tratados	Estimulação com dexametasona e ACTH.
Aragon et al. (2001)	3,29 µg/dL	Animais suplementados com cromo.
Vasquez e Herrera (2003)	Média 3,29 µg/dL	Animais não suplementados com Cromo. Estresse térmico.
Yoshida e Nakao (2005)	3,8 e 4,4 ng/mL	Colheita de sangue.
Reis et al. (2006)	3,68 µg/dL	Controle animais submetidos ao estresse através de uma caneta de manipulação e pessoas estranhas.
Maziero et al. (2012).	10 a 50 ng/mL* 8,3 a 62 ng/mL**	*Vacas Nelore. Manejo no tronco, palpação transretal e ultrassonografia genital, venopunção diária por 21 dias. **Idem semanalmente nove semanas.

Deve-se considerar, entretanto, que diferenças nos resultados de dosagens hormonais entre estudos podem ser devido a diferenças nas técnicas laboratoriais adotadas e não na fisiologia animal (GATTO, 2007).

Yoshida e Nakao (2005) demonstram que procedimentos como injeção intramuscular em vacas taurinas elevam as concentrações de cortisol acima de 10 ng/mL.

Os glicocorticoides circulantes induzem a formação de glicose pela degradação de proteínas e gorduras através da gliconeogênese, aumentando a concentração de açúcar no sangue. Desempenham, também, um papel chave no controle da atividade do eixo HHA e na finalização da resposta ao estresse, através de uma realimentação inibitória em áreas cerebrais extra-hipotalâmicas, hipotálamo e hipófise (JOËLS; BARAM, 2009). Os efeitos das condições de estresse são evidenciados sobre os parâmetros fisiológicos (FC e FR), níveis de cortisol, ACTH, adrenalina e ocitocina.

As vacas respondem ao estresse agudo por meio de mudanças no comportamento, como vocalizar (berrar), defecar e urinar (SANTOS, 2005). De acordo com Santos (2005) e Hötzel et al. (2009) tanto a defecação quanto a micção ocorrem quando as vacas se encontram agitadas num estado de estresse agudo.

Em relação à defecação Argenzio (2006) afirmou que ocorre quando o animal se encontra com medo, sendo facilitada por reflexos cerebrais com pouco ou nenhum controle voluntário. Também a micção segundo Peters et al. (2010) ocorre como ato reflexo, quando os animais são estimulados ou estressados, neste sentido ocorreria pela saída do pasto para a sala de ordenha corroborando as observações de Rosa (2004).

Para Krawczel e Grant (2009) descanso, alimentação e ruminação são os comportamentos naturais mais importantes para a saúde, bem-estar e produtividade dos bovinos leiteiros, sendo que segundo Philips (1993), a ruminação é um processo que somente ocorre quando o animal está totalmente relaxado, interagindo positivamente ao meio-ambiente onde está inserido. Adicionalmente Marques (2000) e Passini et al. (2009) descreveram que animais ruminando estão em estado de conforto e bem estar provavelmente por uma hierarquia bem definida e sem interações agonísticas.

A ingestão de alimentos, água e a ruminação são padrões fixos de comportamento que podem ser alterados por fatores bióticos (temperatura corporal e frequência respiratória) ou

abióticos (temperatura ambiente e umidade relativa do ar) (HAFEZ; SCHEIN, 1962; ARNOLD; DUDZINSKI, 1978).

Para a temperatura ambiente são definidas zonas de conforto térmico e de termoneutralidade específicas para as diferentes espécies. Para bovinos da raça Holandesa, os limites térmicos da zona de conforto variam de 1°C negativo a 21 °C, a de termoneutralidade situa-se em 27 °C, e o limite de umidade relativa ideal varia de 60 a 70% (MÜLLER, 1989).

O estudo da influência dos fatores abióticos sobre os animais deve estar associado à análise das condições de manejo e das características particulares de cada animal ou rebanho (espécie, raça, idade, sexo, estado fisiológico) que, juntos podem interferir nos padrões de comportamento, favorecendo situações de estresse (JOHNSON et al., 1963; SHEBAITA et al., 1992; ABENI et al., 1993; BEEDE et al., 1994; GRANT; ALBRIGHT, 1995).

A umidade relativa do ar pode causar desconforto térmico se estiver associada com altas temperaturas, prejudicando os processos de dissipação de calor corporal (JOHNSON et al., 1963; ARMSTRONG, 1994). Com o aumento da temperatura ambiente a ingestão de alimentos é drasticamente diminuída, modificando os parâmetros de fermentação ruminal e o aproveitamento dos nutrientes (SILANIKOVE, 1992). Animais em estresse térmico evitam se locomover para buscar alimento, procurando locais sombreados com consequente diminuição na produtividade (PORCIONATO et al., 2009).

O comportamento ingestivo dos ruminantes pode ser caracterizado pela distribuição desuniforme de uma sucessão de períodos definidos e discretos de atividades, comumente classificadas como ingestão, ruminação, descanso ou ócio (VAN SOEST, 1994). O conhecimento destes ciclos, assim como, do tempo gasto por dia com estas atividades são fatores de grande relevância em sistemas de produção, pois a definição dos horários em que preferencialmente os animais exercem o pastejo é importante para o estabelecimento de estratégias adequadas de manejo (ZANINE et al., 2007).

Fraser (1980) e Van Soest (1994) descreveram que a ruminação em animais adultos ocorre em torno de oito horas por dia variando de quatro a nove horas divididas em 15 a 20 períodos. Já o ócio e as atividades que não incluem a alimentação e ruminação perfazem cerca de 10 horas (ALBRIGHT, 1993), com variações entre 9 e 12 horas por dia (FRASER, 1980; PHILLIPS; RIND, 2001). Oliveira et al. (2011) observaram que a ruminação ocorre em maior parte durante a noite e em período maior que outras atividades.

A função comunicativa da vocalização no mútuo reconhecimento entre mãe e cria foi investigada e descrita por Barfield et al. (1994). A frequência e a duração das vocalizações emitidas pelos bezerros têm características individuais que favorecem a comunicação entre o par (THOMAS et al., 2001).

Poucos estudos foram desenvolvidos visando avaliar a vocalização em bovinos fora do contexto da reprodução e parição (relação maternal). Foi sugerido que a comportamento vocal dos bovinos pode ser utilizado como indicador da sua condição fisiológica e mental (WATTS; STOOKEY, 2000). Reforçando essa observação, Santos (2005) sugeriu que a vocalização em vacas adultas independente da reprodução e parição pode indicar condição de estresse agudo.

O conjunto de reações dos animais frente ao manejo oferecido pelos tratadores é denominado reatividade. Honorato et al. (2012) ao revisarem artigos sobre comportamento animal indicaram que a reatividade é menor quando os animais são manejados de forma gentil (WAIBLINGER et al., 2004; WINDSCHNURER et al., 2009), com regularidade (BOISSY; BOUISSOU, 1988; BOIVIN et al., 1992) e desde o início de sua vida (BECKER; LOBATO, 1997; BREUER et al., 2003).

A reatividade como resposta ao manejo ocorre desde a preparação do úbere até o *pós-dipping* e pode ser mensurada de acordo a movimentação dos membros posteriores (ROSA; PARANHOS DA COSTA, 2007; HÖTZEL et al., 2009; PETERS et al., 2010).

Hötzel et al. (2009) classificaram a reatividade em cinco níveis: dócil, levemente agitado, agitado, muito agitado e violento. Peters et al. (2010) propuseram que a reatividade pode ser avaliada em uma escala com três níveis sendo I - membros imóveis; II - membros em movimento, sem levanta-los acima de 15 cm do solo e III- membros em movimento, levantando em direção ao ordenhador.

Anteriormente Rosa e Paranhos da Costa (2007) dividiram a reatividade nos escores 0 (zero), quando a vaca permanecia com os membros posteriores imóveis e 1 (um) quando a vaca elevava um dos membros posteriores, no máximo, até 15 cm de altura ou escoiceava. Os critérios atuais (HÖTZEL et al., 2009; PETERS et al., 2010) são portanto mais completos e discriminam melhor a reatividade dos animais durante a ordenha.

O espaço individual é representado pelo espaço que o animal necessita para realizar os movimentos básicos, e adicionalmente o espaço social que caracteriza a distância mínima que se estabelece entre um animal e os demais membros do grupo. Há ainda a zona de fuga, que é uma área de segurança individual, que define a menor distância que o animal permite que um estranho, um animal dominante ou um predador se aproxime sem que ele expresse reação (PARANHOS DA COSTA; CROMBERG, 1997; GONÇALVES et al., 2010).

Entre as espécies ocorrem diferenças na distância de fuga de acordo com o seu contato com os humanos e outras espécies. No gado bovino entre a produção de corte e a leiteira observa-se uma distância maior referente à primeira em decorrência do manejo adotado. Para as vacas leiteiras a distância de fuga varia entre zero a sete metros (GRANDIN, 1993) ou entre zero e cinco metros (YUNES, 2001) podendo a raça ter influência sobre essa distância.

Animais com nível de medo elevado referente aos humanos dificultam muito o manejo (COSTA E SILVA et al., 2009). Rushen et al. (1999); Munksgaard et al. (2001); Yunes (2001) e Hötzel et al. (2005) realizaram estudos que demonstraram uma maior distância de fuga em vacas que reconhecem pessoas que as tratam aversivamente.

Gomes et al. (2007) evidenciaram que a distância de fuga tem bom potencial para ser utilizado a campo e é mensurada quando um observador entra no pasto ou piquete e tenta se aproximar de um animal. A distância que o animal se deixa aproximar é um bom indicador da relação homem-animal (HÖTZEL et al., 2005).

2.6.2. Manejo

O sistema de criação é caracterizado por uma série de fatores e suas interações podem afetar o comportamento dos animais, comprometendo o seu desempenho e, conseqüentemente, a viabilidade da produção (PARDO et al., 2003).

A produção é resultado da nutrição, da raça e do manejo fornecido aos animais. A produção e a composição do leite podem ser alteradas por diversos fatores destacando-se a genética, nutrição, tratamentos hormonais (BAUMAN et al, 1999), fotoperíodo, estado reprodutivo (VAN AMBURGH et al., 1997), ambiente, conforto e o número diário de ordenhas (STELWAGEN, 2001). Entre esses fatores, a frequência de ordenha é citada como o mais importante regulador do volume de produção (KNIGHT et al., 1994) porque o maior número de ordenhas diárias resulta na proliferação e diferenciação do epitélio secretor da glândula mamária (HILLERTON et al.,1990) e aumento da produção (RUAS et al., 2006).

Um aumento na pressão intra-alveolar em decorrência da produção de leite e esgotamento inadequado da glândula mamária pode contribuir para a redução da produção (KNIGHT et al., 1992).

Quanto à composição do leite, alguns estudos (AMOS et al., 1985; DEPETERS et al., 1985) não demonstraram alterações na composição do leite de acordo com a frequência de ordenhas, enquanto outros (SPEICHER et al., 1994; BARNES et al., 1990) evidenciaram apenas leve redução no percentual médio de gordura e proteína resultante do aumento da

produção. Vacas ordenhadas uma vez ao dia produzem leite com maior teor de gordura, proteína e menos lactose (CARRUTHERS et al., 1993).

A diminuição do teor de lactose do leite é a mudança mais consistente induzida pelo número de ordenhas (DAVIS et al., 1999). Caseína é mais concentrada no leite de vacas ordenhadas uma vez ao dia (LACY-HULBERT et al., 1999). Anteriormente foi demonstrado por Remond et al. (1992) que não há diferença no teor de caseína no leite de vacas ordenhadas uma ou duas vezes ao dia.

O estresse aumenta as espécies reativas de oxigênio alterando os processos de divisão (hiperplasia) e morte celular (apoptose) em diferentes tecidos (JENG SU et al., 2002). Alguns estudos sugerem que o estresse pode intensificar o processo de apoptose na glândula mamária durante a lactação reduzindo a produtividade (STEFANON et al., 2002; TIAN et al., 2005).

Rosa e Paranhos da Costa (2002, 2007), Hötzel et al. (2005), Sant'Anna e Paranhos da Costa (2007) e Peters et al. (2010) discutiram a influência negativa de um manejo aversivo sobre a produção de leite.

Gaiato et al. (2012) avaliaram o efeito do estresse, via administração de ACTH (hormônio adrenocorticotrófico), sobre a quantidade e qualidade do leite produzido e a indicação de estresse pela alteração no nível de cortisol em cabras. Não houve diferença na produção de leite, no teor de proteína e de gordura do leite, nos grupos ACTH e placebo. A contagem de células somáticas não foi influenciada pelo estresse e apresentou valores situados na faixa indicada para animais sadios. Constatou-se estresse pontual em decorrência da aplicação de ACTH, porém sem alterações de natureza quantitativa e qualitativa do leite, indicando que atividades de manejo que estressam os animais pontualmente não trazem prejuízos ao sistema produtivo.

De acordo Hötzel et al. (2005) a produção de leite deve ser mensurada em cada ordenha nos dias da coleta em kg ou litros. É possível que 20% da variação do rendimento da produção esteja ligada a manipulação do gado pelas pessoas (BREUER et al., 2000, apud HONORATO et al., 2012).

Tempo de permanência na sala de ordenha (da entrada dos animais na sala de ordenha até a sua saída) e tempo de ordenha (do momento da fixação das teteiras até a cessação da saída de leite no copo coletor) são parâmetros importantes relacionados ao bem-estar e eficiência do manejo (PETERS et al., 2010).

O tempo de ordenha está diretamente ligado a um bom preparo de pré-ordenha, ou seja, uma massagem no úbere para liberação de ocitocina pela hipófise e conseqüentemente, contração das células mioepiteliais ejetando o leite que influencia o tempo de ordenha (PORCIONATO et al., 2009; PETERS et al., 2010).

O leite residual pode ocorrer quando algum estímulo externo causa estresse inibindo a ejeção do leite (RUSHEN et al., 1999; PORCIONATO et al., 2009). Em situações de manejo aversivo pode ocorrer até 70% de leite residual (HÖTZEL et al., 2005).

O leite residual pode ser aferido dois minutos após a retirada das teteiras pela injeção de 20 UI de ocitocina e ordenha após um minuto (PORCIONATO et al., 2009) ou ainda pela administração de 10 UI ao término da ordenha e nova ordenha cinco minutos após, sendo expresso em quantidade (porcentagem - %) e em relação ao total (HÖTZEL et al., 2005).

Peters (2008) verificou que o manejo aversivo não afetou a composição do leite e a contagem de células somáticas, possivelmente pela curta duração do tratamento.

Um fator importante relacionado à quantidade e qualidade do leite produzido é a mastite. Quando uma infecção está presente na glândula mamária, a capacidade para a produção de leite das células secretoras está reduzida (HARMON, 1994), bem como os componentes do leite estão alterados. Em consequência da inflamação aumentam as concentrações de sódio e cloretos e as quantidades de cálcio, fósforo, magnésio e potássio caem consideravelmente. Estas alterações causam diminuição da tolerância do leite ao calor,

altera suas propriedades organolépticas (sabor, odor e cor) e acarreta diminuição da qualidade dos produtos derivados do leite (DOMINGUES et al., 1999). Dos componentes do leite, especialmente a gordura e os minerais são afetados pela mastite (ZAFALON et al., 2005).

2.7. Ocitocina (OT)

2.7.1. Metabolismo

A ocitocina (OT) é um hormônio (nonapeptídeo) sintetizado nos corpos celulares dos neurônios dos núcleos paraventriculares e supra-ópticos hipotalâmicos, sendo seguidamente transportada pela neurofisina até as terminações nervosas na neuro-hipófise onde é armazenada (GUYTON; HALL, 2006). É também produzida no corpo lúteo, tendo, portanto, dois sítios de produção: hipotálamo e ovário (KIERSZENVBAUM; TRES, 2012).

Em bovinos a produção de OT no hipotálamo continua depois do estímulo, por um período de aproximadamente seis a oito minutos. A OT possui uma meia-vida curta de aproximadamente 1,5 a 2 minutos (NICKERSON, 1992). O tempo de reação do início da estimulação até o início da liberação do leite varia de 60 a 120 segundos e depende do grau de preenchimento do úbere, que, por sua vez, depende do intervalo entre ordenhas e do estágio da lactação (BRUCKMAIER, 2001).

Para uma melhor retirada do leite a OT precisa ser mantida em concentração elevada durante toda a ordenha (BRUCKMAIER; BLUM, 1996; BRUCKMAIER, 2001).

A OT é inativada no fígado e nos rins, bem como pela ocitocinase placentária circulante. Devido à rápida metabolização via ocitocinase, a concentração no sangue venoso periférico representa uma fração da encontrada na veia jugular interna. A liberação em pulsos pode influenciar os níveis periféricos de OT (CHARD; GIBBENS, 1983).

2.7.2. Funções

Todas as funções da OT ainda não foram completamente elucidadas, mas sabe-se que possui receptores em vários tecidos incluindo os rins, a hipófise, a glândula mamária, o útero, o cérebro, os vasos sanguíneos e o coração (KIERSZENVBAUM; TRES, 2012).

Além da ação periférica da OT no trabalho de parto e amamentação, já amplamente documentada, recentes estudos têm demonstrado que a OT é libertada a partir da neurohipófise para a corrente sanguínea e em regiões cerebrais distintas (LUDWIG; PITTMAN, 2003; LANDGRAF; NEUMANN, 2004; LUDWIG; LENG, 2006; HEINRICHS; DAWANS; DOMES, 2009).

Em mamíferos não humanos, receptores para a OT são distribuídos em várias regiões do cérebro (HEINRICHS; DAWANS; DOMES, 2009) e estão associados ao controle do estresse, da ansiedade e modulam o comportamento social, incluindo o cuidado parental, a memória social e a agressividade.

As funções principais da OT são a contração da musculatura lisa do útero gravídico, especialmente no final da gestação, conduzindo à expulsão do feto do útero e a contração das células mioepiteliais ao redor dos alvéolos glandulares e dos ductos das glândulas mamárias, provocando a ejeção do leite. Para que haja a secreção da OT pela hipófise é necessária uma estimulação vagino-cervical e tátil nos tetos (GUYTON; HALL, 2006) e, em alguns animais, ocorre por estímulos auditivos e visuais, como a presença do bezerro e o barulho da máquina de ordenha (COELHO, 2009).

Atua também na contração ligeira do restante da musculatura lisa. Estimula a produção endometrial de prostaglandinas, o processo luteolítico e o sistema imune (GUYTON; HALL, 2006). É necessária para a expressão do comportamento reprodutivo em

machos (FILIPPI et al., 2003; HEINRICHS et al., 2003) e fêmeas (LÉVY, POIDRON, 1987; KENDRICK, 1988; GIOVENARDI et al., 1998).

Atua na iniciação do comportamento materno (PEDERSEN, 1982; NELSON, PANKSEPP, 1998), e na expressão do comportamento agressivo em fêmeas lactantes (GIOVENARDI et al., 1998) bem como no estabelecimento de relações sociais (LIM, YOUNG, 2006; KENDRICK, 2000) e há relatos de efeitos ansiolíticos (NEUMANN et al., 2000).

A) Ejeção do leite

A ejeção do leite é um processo ativo de transporte do lume alveolar para a cisterna da glândula, provocada pela contração dos alvéolos em resposta à ligação da OT às células mioepiteliais da glândula mamária. Há diferenças entre espécies em termos da necessidade ou grau de liberação de OT na ordenha para fins de ejeção do leite (AKERS, 2002).

Há também diferenças na proporção do leite armazenado na cisterna. As vacas leiteiras especializadas armazenam menos de 30% do volume total de leite na cisterna após um intervalo de amamentação (AYADI et al., 2003). Em contraste, o leite da cisterna perfaz até 75% nas cabras leiteiras (MARNET; MCKUSICK, 2001) e nas ovelhas varia de mais de 50% para as raças leiteiras (McKUSICK et al., 2002) para menos de 30% para as raças de corte (CAJA et al., 1999).

A capacidade de liberar OT na presença de um estímulo exteroceptivo (visão, olfato e/ou som dos filhotes ou do local da ordenha) pode influenciar a ativação do reflexo de ejeção do leite. Segundo Pollock e Hurnik (1978), estímulos auditivos na forma de chamados dos bezerros promovem a liberação de OT e afetam a taxa de ejeção do leite em vacas holandesas. Analogamente, Mayer et al. (1991) não encontraram nenhuma evidência que indicasse a liberação de OT condicionada por estímulos. Contudo estudos conduzidos por Hamann e Dodd (1992) evidenciaram que quando se adota uma rotina regular de ordenha os estímulos se transformam em reflexos "condicionados" de ejeção do leite.

Fuchs et al. (1987) sugeriram que respostas divergentes a diferentes estimulações poderiam ser uma consequência de diferenças na configuração anatômica da glândula mamária entre mamíferos.

Ao contrário do esperado, nas primeiras amamentações ou ordenhas realizadas logo após o parto a quantidade de OT liberada não é significativa (NEGRÃO, MARNET, 2003) mesmo que haja estoque na neurohipófise (LINCOLN; PAISLEY, 1982). De forma gradual, a OT passa a ser liberada durante a amamentação ou ordenha e após uma ou duas semanas tem sua liberação em concentrações significativas (NEGRÃO, MARNET, 2003).

A liberação de OT é estimulada tanto na amamentação, pela sucção feita pelo bezerro quanto na ordenha manual e pelo equipamento de ordenha mecânica (MARNET, NEGRÃO, 2000). Contudo há relatos controversos sobre a intensidade das respostas produzidas pela amamentação e ordenha mecânica na estimulação da descida do leite. A maioria dos autores (AKERS; LEFCOURT, 1982; de PASSILÉ et al., 1997; TANCIN et al. 2001) concorda que há uma liberação mais alta de OT em resposta à amamentação.

Após a primeira semana do parto a interação materno-filial é consolidada (LÉVY et al., 1995) e o desmame promove estresse levando a alterações comportamentais, aumento dos níveis circulantes de cortisol, redução dos níveis de OT e inibição do reflexo neuro-endócrino de ejeção do leite (NEGRÃO; MARNET, 2003).

Vários fatores como a realização da ordenha em local desconhecido, a presença de pessoas estranhas e o desmame podem provocar um distúrbio no reflexo de ejeção do leite (BRUCKMAEIR, 2005).

A interferência do desmame é evidente mesmo num sistema de manejo misto. Onde as fêmeas amamentam uma parte do dia, ocorre uma perda da produção de leite no desmame completo, embora a quantidade de leite produzido aumente em função de uma melhor ejeção neste tipo de manejo (MARNET; NEGRÃO, 2000).

Por outro lado, na ordenha mecânica sem a presença do bezerro ocorre perda na porcentagem de gordura do leite possivelmente por pouco estímulo da ordenhadeira mecânica ou ainda pela não transferência da gordura da porção alveolar para a cisterna (MCKUSICK et al., 2002). Com isso, o estímulo da sucção e da interação materno-filial são sempre mais potentes do que a ordenha mecânica em aumentar a secreção de OT plasmática (MARNET, NEGRÃO, 2000) interferindo no comportamento materno (LE NEINDRE et al., 1979; FLEMMING et al., 1999), e na composição e produção de leite (MARNET et al., 1998; MARNET; NEGRÃO, 2000; BRUCKMAIER, 2005).

Em comparação com a ordenha manual, a ordenha mecânica resultou em liberação mais baixa de OT (GOREWIT et al., 1992). A extensão dos efeitos da estimulação manual é variável, possivelmente decorrente da variação inter-raças na resposta aos estímulos (WALSH, 1974). Portanto, dependendo do tipo de estimulação há diferentes respostas na liberação da OT (BRUCKMAIER; BLUM, 1998).

A OT chega às células mioepiteliais de 20 a 60 segundos após a estimulação dos tetos e a ejeção ocorre entre 40 e 120 segundos após esse estímulo. Quanto mais cheio estiver o úbere mais rápida será a ejeção (COELHO, 2009).

Tem-se discutido que a ejeção do leite pode não ser essencial para a retirada adequada do leite em animais que armazenam a maior parte do leite nas cisternas glandulares (CROSS, 1977; AKERS, 2002). Em caprinos, demonstrou-se que a liberação de OT ocorre imediatamente após o início da estimulação, provocando leves mudanças na vazão do leite, que tende a diminuir diferentemente do observado em vacas (BRUCKMAIER et al., 1994).

Mesmo com um manejo de ordenha qualificado é normal ocorrer de 10 a 20 % de leite residual (HEALD, 1985; SCHMIDT et al., 1988 *apud* SILVEIRA et al., 2009). Em dois estudos, mostrou-se que a ordenha mecânica deixa mais leite residual no úbere do que a ordenha manual e a amamentação (HAMANN; TOLLE, 1980; BAR-PELED et al., 1995).

A baixa ejeção do leite pode ser devida à insuficiência na liberação da OT, insensibilidade mamária à OT ou disfunção hipofisária (MURUGAIYAH et al., 2001). A estimulação pré-ordenha insuficiente ou inadequada pode ser a causa de baixa liberação de OT. O temperamento da vaca pode contribuir para a insuficiência na ejeção do leite, uma vez que o estresse inibe a liberação da OT (BRUCKMAIER; BLUM, 1998).

A retirada do leite residual pode ser feita com o uso de OT exógena que possui meia-vida curta, em função de sua natureza polipeptídica, com ação de aproximadamente 22 minutos em administrações intravenosas (HOMEIDA; COOKE, 1984). Entretanto, segundo Hillerton e Semmens (1999) o seu uso fica restrito a pesquisa e condições específicas, pois se utilizado frequentemente esse hormônio pode causar efeitos colaterais, inclusive mastite. Para Wattiaux (2011) a injeção de OT em várias ordenhas pode ajudar. Entretanto, essa prática não deve ser feita rotineiramente porque algumas vacas podem rapidamente se tornar dependentes da injeção para o reflexo de ejeção do leite.

Duas hipóteses têm sido propostas para o efeito da OT sobre a produção de leite. A primeira refere-se à influência da OT na remoção de leite, que aumenta a secreção pela redução do efeito inibitório da lactação. A segunda hipótese atribui à OT influência direta na produtividade ou manutenção das células epiteliais mamárias (BALLOU et al., 1993).

B) Parto e atividade reprodutiva

A OT responsável pela liberação do leite é também responsável por estimular as contrações uterinas durante a fase folicular do ciclo estral e durante os últimos estágios da gestação. No decorrer do parto a concentração de OT periférica é alta, no entanto, algumas horas após os níveis caem consideravelmente (HYDBRING et al., 1999).

Ensaio de ligação demonstraram a presença do receptor de OT em células luteínicas de bovinos durante o ciclo estral (FUCHS et al., 1990a,b; IVELL et al., 1995), porém o mesmo não foi detectado durante a gestação (OKUDA et al., 1992).

A quantidade de OT presente nos receptores do endométrio é regulada pela progesterona que diminui a sensibilidade à OT (GRAZZINI et al., 1998).

Entre os dias 15 a 17 do ciclo estral o embrião passa por um período crítico do seu desenvolvimento enfrentando a possibilidade de regressão luteal e o final da gestação devido à secreção de prostaglandina 2α (PGF- 2α) pelas células endometriais (CRISTHIANSON et al., 1992; RIBEIRO et al., 2002). Após esse momento o conceito deve sinalizar sua presença através de uma cadeia de reações a fim de inibir a produção pré-programada de PGF 2α no endométrio, evitando a regressão do corpo lúteo (CL), estabelecendo o mecanismo anti-luteolítico fisiológico (BINELLI et al., 2001).

A função mais importante no bloqueio da luteólise é através do estímulo do desenvolvimento embrionário, que incrementa a produção de interferon-thau (MANN, 2001).

A progesterona P4 produzida pelo CL é um dos fatores que vai estabelecer a manutenção da gestação, no entanto também desencadeia a formação de fatores luteolíticos (RODRÍGUEZ, 2001). Pelos dias 10 a 15 do ciclo estral começam a diminuir o número de receptores de P4 no útero, começam a aumentar os receptores de estrógeno, sendo que estes influenciam a expressão dos receptores de OT, que vão influenciar diretamente na produção de PGF 2α (OLIVEIRA, 2006).

A OT produzida pelo CL (ovariana) induz o endométrio a liberar PGF 2α que tem ação luteolítica. Esse mecanismo é regulado pelo número de receptores os quais a OT está ligada (KASTELIC, 2003). A P4 no período crítico diminui a afinidade da OT com seus receptores (GRAZZINI et al., 1998). É suposto que para que ocorra luteólise, o CL deve ser exposto à aproximadamente cinco a oito pulsos de PGF 2α com intervalos de seis a oito horas. Isso ocorre cada vez que a OT se liga aos receptores (OTR) desencadeando a cascata de produção do PGF 2α (RODRÍGUEZ, 2001).

O aumento de secreção de progesterona pelo CL promove a inibição dos receptores de OT pouco antes da luteólise (MANN; LAMMING; PAYNE, 1998; SALLES; ARAÚJO, 2010).

Para impedir a formação do PGF 2α e a luteólise, as células mononucleares do trofoectoderma, produzem e secretam nas suas etapas iniciais de desenvolvimento o interferon-thau (INF- τ), e por ação parácrina ligam-se as células endoteliais do endométrio, ligando-se aos seus receptores, o que promove um bloqueio no RNAm que codifica o gene dos receptores de estrógenos e a expressão do gene para receptores de OT impedindo assim o desencadeamento do mecanismo endometrial luteolítico. No entanto, o INF- τ não inibe a produção basal de PGF 2α (CHARPIGNY et al., 1997).

É proposto que o IFN- τ exerce um efeito antiluteolítico alterando a formação de PGF 2α (RODRIGUES, 2001).

Foi descrito que o tratamento das células luteínicas com antagonista específico da progesterona inibe a secreção de progesterona e de OT, além de diminuir a produção de PG, exceto da PGF 2α , cuja síntese foi estimulada (SKARZYNSKI; OKUDA, 1999). Isso significa que a progesterona inibe a síntese de PGF 2α no meio do ciclo.

Leemaster (1999) tratou vacas com OT entre os dias 5 e 8 após a inseminação artificial com conseqüente redução da taxa de prenhez de 80% para 33%, porém, esse efeito foi revertido quando um agente anti-prostaglandina foi administrado junto com a OT.

A função e atividade da OT são influenciadas pelo cortisol, o qual tem papel no trabalho de parto aumentando a expressão do RNAm do receptor de OT, no final da gravidez, preparando o miométrio para o trabalho de parto (WU, 1994).

C) Comportamento e relações sociais

Receptores para a OT e arginina-vasopressina (ADH) são distribuídos em várias regiões do cérebro (HEINRICHS; DAWANS; DOMES, 2009) e estão associados ao controle do estresse, da ansiedade e modulação do comportamento social.

Especificamente, a OT parece atuar tanto para permitir quanto evitar a proximidade natural e para inibir o comportamento defensivo, facilitando a abordagem ou a aproximação (CARTER; ALTEMUS, 1997; PEDERSEN, 1997; CARTER, 1998, UVNAS-MOBERG, 1998; YOUNG; PITKOW; FERGUSON, 2002; CARTER et al., 2008; DONALDSON; YOUNG, 2008).

A arginina-vasopressina tem sido implicada principalmente nos comportamentos sociais masculinos típicos, incluindo agressão, marcação de território e acasalamento (CARTER, 1998; INSEL; YOUNG, 2001; LIM; YOUNG, 2006; CARTER et al., 2008; DONALDSON; YOUNG, 2008).

Receptores cerebrais de OT estão envolvidos com a regulação de uma ampla variedade de comportamentos, incluindo cuidados maternos, interações e memória social (DONALDSON; YOUNG, 2008; NEUMANN, 2008), além da promoção da aprendizagem e da memória (TOMIZAWA et al., 2003).

Carter (1998), em artigo de revisão, destacou a grande associação nos níveis da atividade do eixo HHA e o comportamento social. Os comportamentos sociais positivos possibilitam redução da atividade do eixo HHA que tem como consequência a diminuição dos estados de estresse, sugerindo que a OT seria capaz de incrementar as interações sociais, reduzindo a atividade do eixo HHA.

Dacome e Garcia (2008) enfatizaram ao revisar o efeito modulador da OT sobre o prazer, que o comportamento social faz parte do processo evolutivo dos animais e quanto mais complexos são os comportamentos de uma espécie, mais dinâmico e versátil deve ser seu sistema neurotransmissor e hormonal.

As interações materno-filiais após o parto são fundamentais para o estabelecimento e manutenção do comportamento materno (LE NEINDRE et al., 1979; FLEMMING et al., 1999) tornando as fêmeas seletivas para amamentarem exclusivamente seus filhotes (LÉVY et al., 1995). Sistema de criação para a produção de carne ou de leite, mantendo populações específicas de bovídeos em condições de manejo diferenciado, podem induzir diferenças nas relações materno-filiais.

Relatos de Kiley (1976) apontam que por questão de produtividade e facilidade no manejo, o gado leiteiro tem sido fortemente selecionado para um comportamento maternal menos rígido, enquanto vacas especializadas para produção de carne têm sido fortemente selecionadas para o reconhecimento precoce do bezerro e a manutenção de uma forte ligação com ele. Esses argumentos foram reforçados pelos achados de Le Neindre (1989) ao avaliarem o comportamento maternal de vacas com aptidão para corte e produção de leite. A fraca ligação social das vacas leiteiras propiciando melhores conversões, e facilidades de instalações e a baixa seletividade do bezerro (ligada à facilidade de ordenha) são características importantes para a pecuária leiteira.

O isolamento dos bezerros logo após o parto (promovendo o aleitamento artificial) é uma prática de manejo comum na pecuária leiteira, apesar de Broom e Leaver (1978) terem demonstrado que as fêmeas criadas isoladas foram menos interessadas em seus bezerros do que as criadas em grupo. Os padrões comportamentais de vacas e bezerros durante o período

perinatal podem estar associados à sobrevivência, ao desenvolvimento dos bezerros e ao desempenho materno das vacas nos partos subsequentes e, portanto, devem ser considerados na definição do manejo a ser adotado.

Normalmente, após o reconhecimento de sua cria, as mães bovinas não permitem a aproximação de outros bezerros para mamar; o mesmo ocorrendo com as búfalas apenas no periparto, pois numa fase posterior estas permitiram ou toleraram outros bezerros para mamar (ANDRIOLO, 1995; MADELLA-OLIVEIRA; BASTOS; QUIRINO, 2010).

Vários procedimentos de rotina nos sistemas de criação de bovinos de leite podem envolver comportamentos humanos que são aversivos para os animais (PAJOR et al., 2003).

Foi demonstrado que vacas aprendem a reconhecer pessoas que as tratam aversivamente, passando a manter-lhes uma maior distância de fuga (RUSHEN et al., 1999; MUNKSGAARD et al., 2001; YUNES, 2001; HÖTZEL et al., 2005) e potencialmente interferem sobre o comportamento e produção leiteira, especialmente através do aumento da retenção de leite (RUSHEN et al., 1999; BREUER et al., 2000).

Considerando que a contenção, inspeção ou tratamento veterinário no ambiente de ordenha de vacas pode influenciar o comportamento Hötzel et al. (2009) avaliaram dados comportamentais antes e depois do procedimento. O comportamento das vacas durante o procedimento indicou forte aversividade. O tratamento não influenciou a distância de fuga em relação ao veterinário ou a uma pessoa desconhecida, antes e após o procedimento veterinário, nem o número de interações agonísticas no grupo, observadas antes e após o procedimento ou um escore de reatividade. Estes resultados não permitem concluir que a aplicação repetida e inevitável de procedimentos veterinários no ambiente da ordenha influencia o comportamento das vacas durante a ordenha ou a sua reatividade ao homem.

D) Ocitocina e estresse

Receptores cerebrais de OT também estão associados com a ansiedade e a depressão relacionadas com o enfrentamento do estresse. Além de seus efeitos sobre o comportamento social a OT diminui a resposta neuroendócrina ao estresse (WINDLE et al., 1997; NEUMANN et al., 2000; BALE et al., 2001; CARTER; ALTEMUS; CHROUSOS, 2001; WINDLE et al., 2004; PARKER et al., 2005).

Em aparente contradição, a liberação de OT pode ser inibida em situações de estresse, tais como: ambiente novo para o animal e mudança no sistema de ordenha (manual – mecânica, ou vice - versa). As situações estressantes provocam liberação de noradrenalina, que podem impedir a OT de atingir as células mioepiteliais e seus receptores por vasoconstrição periférica (BREAZILE, 1988; PORCIONATO; NEGRÃO; LIMA, 2005).

Os efeitos ansiolíticos e anti-estresse da OT foram relacionados à atividade do SNC, amígdala e núcleo paraventricular do hipotálamo. Assim, o sistema cerebral de OT parece ser um alvo potencial para o desenvolvimento de agentes terapêuticos para o tratamento de ansiedade e depressão ou de doenças relacionadas com comportamentos sociais anormais, incluindo autismo em humanos (NEUMANN, 2008).

E) Condição corporal e metabolismo energético

A anorexia induzida pela ação da OT periférica foi documentada inicialmente por Arletti; Benelli e Bertolini (1989). Estudos recentes indicam que a OT está implicada no metabolismo de energia (MAEJIMA et al., 2008; 2011; TAKAYANAGI et al., 2008; CAMERINO, 2009; ZHANG; CAI, 2011; MORTON et al., 2011) e também relacionam a OT

ao processo de controle da vontade de ingestão alimentar e balanço energético, confirmando os achados pioneiros de Arletti; Benelli e Bertolini (1989).

Crescentes evidências sugerem que a OT desempenha um papel importante na regulação do equilíbrio de energia e que a administração central de OT induz a perda de peso. Em animais obesos, os pesquisadores descobriram que injeções diárias de OT diminuíram o consumo total de comida, como também reduziram o peso corporal, durante e por nove dias após o tratamento. A aplicação da droga também reduziu a gordura abdominal, aumentou a tolerância à glicose e diminuiu a gordura no fígado. Além disso, reduziu o tamanho das células adiposas, mas não afetou a pressão sanguínea ou seu nível de atividade. Os resultados revelam os efeitos anti-obesidade e anti-síndrome metabólica da OT administrada através de cápsulas implantadas no tecido subcutâneo (MAEJIMA et al., 2008).

As mais recentes publicações sugerem que a OT é um hormônio catabólico, anorético, e que pode exercer um ou de ambos estes efeitos, dependendo da via e/ou período de tratamento ou deficiência de receptores (TAKAYANAGI et al., 2008; CAMERINO, 2009; ZHANG; CAI, 2011; MORTON et al., 2011).

Foi demonstrado que ratos com deficiência nos receptores de OT desenvolvem obesidade de início tardio e hiperleptinemia sem alterações na ingestão de alimentos, além de desenvolverem resistência à insulina e intolerância à glicose (CAMERINO, 2009). A falta de receptores de OT também resultou em baixos níveis de adrenalina validando de acordo com os autores a hipótese de que as alterações metabólicas observadas estão associadas com uma diminuição do tônus do sistema nervoso simpático.

Tem sido demonstrado que neurônios no núcleo paraventricular são componentes de um circuito de sinalização da leptina para a regulação da ingestão de alimentos e homeostase de energia. A falta de receptores de OT nesses camundongos não teve impacto direto no comportamento ingestivo cuja regulação é provavelmente dependente da complexa interação de vários fatores. Os resultados indicam que a OT é um importante regulador central da homeostase energética.

Para melhor compreensão da ação da OT na redução do peso, Morton et al. (2011) examinaram a alimentação e as respostas neuronais à OT em animais obesos após a exposição a uma dieta rica ou com baixo teor de gordura. Os resultados demonstraram que a administração periférica de OT reduziu a ingestão de alimentos e o peso de forma semelhante, em ratos mantidos em ambas as dietas. O efeito anorético da OT ocorre provavelmente por um mecanismo independente da leptina (via neural de melanocortina).

F) Outras funções

Em aves a OT reduz a pressão arterial e uma grave retenção de água pode ocorrer em mamíferos que recebem doses elevadas desse hormônio para promover contrações uterinas durante o trabalho de parto. Altas doses de OT também estimulam os receptores de hormônio antidiurético. Em alguns animais a OT pode reduzir a liberação de hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) mediada pelo hormônio corticotrópico (CRH). Injeção intravenosa exerce ação vasodilatadora e em doses grandes ação antidiurética fraca semelhante a da vasopressina resultando em retenção hídrica com hipotensão transitória e taquicardia associada (GUYTON; HALL, 2006; ENGELKING, 2010).

2.8. Perfil Metabólico

Os metabólitos sanguíneos têm sido utilizados como auxiliares do diagnóstico clínico, principalmente em casos individuais. O termo perfil metabólico aplicado inicialmente (PAYNE et al., 1970) ao estudo de componentes hematológicos e bioquímicos específicos em vacas leiteiras, com o intuito de avaliar, diagnosticar e prevenir transtornos metabólicos, e

como indicador do estado nutricional, foi ampliado e a metodologia passou a ser utilizada também para outras espécies, em análises individuais ou de rebanhos.

O exame bioquímico dos componentes do sangue e fluidos, especialmente o leite permite avaliar o grau de adequação nas principais vias metabólicas, bem como a funcionalidade de órgãos vitais (CONTRERAS, 2000).

Um grande número de variáveis relacionadas ao perfil metabólico podem ser mensuradas e os tipos de metabólitos definem o alcance da interpretação do perfil (HAIDA et al., 1996). Os componentes bioquímicos sanguíneos mais comumente determinados no perfil metabólico representam as principais vias metabólicas do organismo, das quais a ureia, as globulinas, a albumina e as proteínas totais representam o perfil proteico e a glicose, os ácidos graxos livres, o colesterol e o β -hidroxibutirato representam o perfil energético. Além destes metabólitos, é usual lançar mão da avaliação do escore de condição corporal (ECC), sendo essa uma forma, embora subjetiva, eficiente para se avaliar as reservas energéticas em vacas (GONZÁLEZ, 2000).

Para uma adequada interpretação dos valores encontrados no perfil metabólico deve-se ter um correto conhecimento da fisiologia e bioquímica do animal, além de conhecer a fonte e a função de cada um dos metabólitos avaliados. Os métodos utilizados também são importantes na determinação do perfil metabólico (WITTEWER, 1995). Segundo Bezerra (2006) uma das maiores dificuldades da utilização desta ferramenta é a falta de valores de referência adequados, além da grande variação dos metabólitos em função de fatores como raça, idade, estresse, dieta, nível de produção, manejo, clima e estado fisiológico.

No Brasil diversos autores utilizaram o perfil metabólico como indicador do *status* nutricional em ruminantes, especialmente proteico e energético, bem como foram conduzidos inúmeros estudos com a finalidade de estabelecer valores de referência para diversas raças, em diferentes condições, destacando-se Gregory e Siqueira (1983), Ferreira e Torres (1992), González et al. (1993), Ribeiro et al. (2003), Ribeiro et al. (2004), Peixoto et al. (2006) e Bezerra (2006).

2.8.1. Indicadores do metabolismo proteico

A) Ureia

De acordo com Church (1988), os componentes nitrogenados da dieta são convertidos em amônia por ação das enzimas bacteriana no rúmen, sendo esta utilizada pela microbiota ruminal, para a produção de aminoácidos, juntamente com os carbonos provenientes dos carboidratos da dieta. A amônia que não é utilizada pela flora ruminal passa à corrente sanguínea e vai ao fígado onde é processada em ureia que circula no sangue até ser eliminada na urina e no leite, ou reciclada para o rúmen via saliva ou por difusão pela parede do órgão.

A amônia ruminal, a ureia no sangue e no leite estão altamente correlacionadas, podendo ser utilizadas para monitorar o perfil da dieta (OLIVEIRA JUNIOR et al., 2004). Particularmente em ruminantes, os níveis de ureia sanguínea são afetados pela dieta, sendo a ureia um indicador sensível e imediato da ingestão de proteínas, ao contrário da albumina que é um indicador em longo prazo do *status* proteico (GONZÁLEZ; SCHEFFER, 2003).

O equilíbrio energia/proteína na dieta de ruminantes é fundamental para o bom aproveitamento da ureia. Alterações na dieta, sazonais ou diárias, influenciam os níveis séricos de ureia. A redução da ingestão de energia age inversamente na concentração de amônia ruminal devido à diminuição da síntese proteica microbiana, elevando a concentração de ureia sanguínea (WITTEWER, 2000; OLTNER; WIKTORSSON, 1983). Assim, em vacas leiteiras, a ureia no sangue, pode se elevar pela degradação de proteína no rúmen, e pela degradação de proteína nos tecidos (em nível celular) (KANEKO et al., 1997).

Jenkins et al. (1982) demonstraram de forma evidente a influência dos fatores etários sobre os valores séricos de ureia em bovinos, quando verificaram que bezerros apresentavam valor sérico médio de ureia mais elevado (14,50 a 43,37 mg/dL) que bovinos adultos (27,4 mg/dL). González (1997) observou que aumentos nos níveis de ureia sanguínea ocorrem no final da gestação e esses diminuem pouco antes e logo após o parto, mesmo em vacas com adequado teor de proteína na dieta.

Calixto Jr et al. (2010) em referência a Berglund e Oltner (1983) salientaram que os fatores relacionados, à idade e condições individuais influenciariam mais significativamente os valores séricos de ureia e creatinina do que os referentes à dieta.

Em condições de alimentação a pasto, González et. al. (1996) suplementando vacas da raça holandesa com aveia e silagem de milho encontraram como média geral do rebanho, o valor de $21,6 \pm 9,6$ mg/dL para nitrogênio ureico no sangue (NUS).

Andreoti (1998) considera que o nível sanguíneo médio de ureia tido como normal é de 5 a 20 mg/dL. Contudo de acordo com González e Silva (2006), o valor de referência para a espécie bovina varia de 17 a 45 mg/dL, valores idênticos aos observados por Kaneko et al. (1997). Gregory et al. (2004) estabeleceram como referência para vacas da raça Jersey, teor sérico da ureia ($28,35 \pm 10,94$ mg/dL) e creatinina ($1,35 \pm 0,21$ mg/dL).

Os valores médios encontrados por Peixoto et al. (2006) para albumina (2,36 mg/dL) e NUS (14,98 mg/dL) ficaram dentro dos limites preconizados por González (2000) para bovinos de corte ($< 3,0$ e < 15 mg/dL, respectivamente). Gregory e Siqueira (1983) e González et al. (1993) haviam citado valores acima de 2,8 mg/dL para albumina em vacas de corte.

Carrol et al. (1988), trabalhando com vacas alimentadas com baixa (13%) ou alta (20%) concentração de proteína bruta, encontraram valores maiores para NUS em favor das vacas alimentadas com maior concentração de proteína bruta (24,5 mg/dL).

B) Albumina

A albumina segundo Coles (1993) tem como principal função o transporte de substâncias no plasma. A albumina constitui, ainda, reserva de aminoácidos para o metabolismo proteico e representa a fração proteica com maior influência na osmolaridade sanguínea, em razão de seu baixo peso molecular e de sua alta concentração no plasma.

A albumina pode ser um indicador do conteúdo de proteína na alimentação. Contudo para se detectar mudanças significativas na concentração de albumina é necessário um período de pelo menos um mês, devido à baixa velocidade de síntese e de degradação desta proteína (PAYNE; PAYNE, 1987).

Segundo Wittwer (2000) quando o aporte de energia da dieta é deficiente, há uma diminuição nas concentrações de albumina e hemoglobina.

No sangue, o nível de albumina pode cair no parto, devendo recuperar-se durante o pós-parto (CONTRERAS, 2000). González e Rocha (1998) observaram que a produção de leite tem relação direta com a concentração de albumina. Níveis de 2,90 g/dL foram relatados em vacas com produção de leite abaixo de 15 kg/dia. Já, níveis de 3,22 g/dL foram observados em animais produzindo mais de 30 kg/dia.

C) Proteínas plasmáticas totais (PPT)

Um dos metabólitos utilizados para avaliação do status nutricional proteico são as proteínas totais. O fígado é o principal órgão produtor e sua síntese está diretamente relacionada com os níveis de proteína da dieta e funcionalidade hepática (GONZÁLEZ; SILVA, 2006). Além da deficiência de proteína da dieta as doenças renais, lesões intestinais e as hemorragias afetam os níveis de proteínas totais no sangue (RADOSTITIS et al., 2007).

Como valores de referência para PPT na espécie bovina, González e Silva (2006) e Kaneko et al. (1997) citaram limites de 6,6 a 7,5 g/dL e 6,74 a 7,46 g/dL, respectivamente.

Haida et al. (1996), em trabalho com vacas holandesas, entre 3 e 4 meses de lactação e González et al. (1996), durante o pico de lactação, encontraram valores médios de $8,26 \pm 3,43$ g/dL e de $8,11 \pm 1,75$ g/dL para PPT, respectivamente. Em trabalho com vacas da raça Jersey, Gregory (1995) encontrou valores médios para proteínas totais de $6,72 \pm 0,70$ g/dL, enquanto Souza et al. (2004), com vacas das raças Jersey e Holandesa, encontraram valores de $6,37 \pm 0,90$ e $6,82 \pm 0,97$, respectivamente. Por outro lado, Souza (1997), trabalhando com vacas das raças holandesa, gir e girolanda, encontrou valores de $7,57 \pm 0,09$, $7,02 \pm 0,08$ e $7,38 \pm 0,07$ g/dL, para as respectivas raças.

2.8.2. Indicadores do metabolismo energético

A) Beta-hidroxibutirato no sangue e leite (β HB)

Entre os metabólitos sanguíneos mais usados para avaliar o *status* energético estão a glicose, o β -hidroxibutirato (β HB) e os ácidos graxos não esterificados ou livres (AGNE) (RUSSEL, 1983; GONZÁLEZ, 2000). Os corpos cetônicos β HB e acetoacetato aumentam no plasma quando há um balanço energético negativo. Seus precursores são os lipídeos e os ácidos graxos da dieta, bem como os depósitos de gordura corporal (WITTEWER, 2000). O teor de β HB no sangue é inferior a 1,0 mmol/L (GEISHAUSER et al., 1998).

Em trabalho conduzido por Campos et al. (2005) os maiores valores de β HB foram observados no pico da lactação. Adicionalmente Campos et al., (2007) avaliaram a condição corporal em diferentes grupos raciais e observaram altos valores de β HB na raça Girolando, contudo, os valores foram normais e dentro dos limites de referência.

B) Colesterol

Os triglicerídeos e principalmente o colesterol têm sido usados em estudos do metabolismo de lipídios (REIST et al., 2002). O colesterol nos animais pode ter origem exógena, proveniente dos alimentos, ou endógena, sintetizado no fígado (50%), nas gônadas, no intestino, na glândula adrenal e na pele. A síntese ocorre a partir do acetil-CoA, que provém do ácido acético produzido no rúmen pela fermentação da fibra da dieta. O colesterol circula no plasma ligado às lipoproteínas, sendo que cerca de 2/3 dele está esterificado com ácidos graxos, sendo armazenado nos tecidos na forma de ésteres de colesterol como precursor de corticoesteróides, hormônios sexuais, ácidos biliares e vitamina D.

Para González e Rocha (1998) elevados níveis plasmáticos de colesterol seriam indicadores da capacidade da vaca para produzir mais leite, uma vez que reflete a capacidade de mobilização de gordura corporal para a lactogênese.

Kaneko et al. (1997) indicam como adequados para bovinos sadios teores séricos de colesterol entre 80 e 120 mg/dL. Costa (1991) estudou a influência do puerpério nos teores séricos de colesterol de bovinos da raça holandesa e encontrou os seguintes resultados: $96,2 \pm 19,9$ (15 dias pré-parto), $91,1 \pm 21,0$ (até 10 dias após o parto) e $133,0 \pm 25,8$ (entre 20 e 30 dias após o parto).

Pogliani (2006) constatou uma grande variação dos níveis séricos referenciados na literatura, segundo a raça, o sexo, o sistema de criação (dieta e alimentação) e, principalmente, a idade, o parto e o puerpério. Borges et al. (2001) descreveram as concentrações médias plasmáticas de colesterol total durante o ciclo estral normal (85,9 mg/dl) e em vacas superovuladas (87,9 mg/dl).

C) AGNE (Ácidos graxos não-esterificados)

Em ruminantes o β HB e ácidos graxos não esterificados (AGNE) são indicadores do balanço energético (KIDA, 2003). Estão relacionados com a taxa de mobilização de reservas lipídicas em momentos de déficit energético (ERICKSON et al., 1992; GONZÁLEZ, 2000).

Os ácidos graxos livres apresentam elevada variação dentro do dia, considerando o tempo de ingestão e condições ambientais alheias ao balanço de energia, como o estresse.

Comparativamente à glicose Herdt (2000) afirmou serem os ácidos graxos livres (AGNE) os mais confiáveis como indicadores do *status* energético.

Palmquist e Moser (1981) apresentaram os dados da concentração de triglicerídeos no plasma de vacas com dieta controle e com dieta suplementada por lipídeos protegidos, que foram de 310 e 778 mg/dl, respectivamente.

D) Glicose

A glicose é o indicador menos expressivo do perfil energético, devido ao forte controle homeostático hormonal sobre sua concentração e efeitos do estresse (BRITO, 2004). Payne e Payne (1987) destacam que a glicemia baixa pode ser indicativa de doença metabólica como a cetose e que, portanto a determinação de glicose tem benefícios em ser realizada.

Os ruminantes têm basicamente a mesma exigência de glicose para o seu metabolismo que outras espécies, embora o nível de glicose encontrado no sangue seja mais baixo, 40 a 60 mg/dL (FRASER, 1991). De acordo com Radostitis et al. (2007), 50 mg/dL é a concentração média de glicose necessária para manutenção dos processos biológicos.

Durante a lactação a glândula mamária tem exigência adicional de glicose para síntese de lactose e glicerol, além da necessidade de NADPH para síntese de ácidos graxos a partir do acetato. O maior precursor de ambas as unidades de lactose é a glicose sanguínea. Assim, vacas em lactação apresentam um nível mais baixo de glicose (RADOSTITIS et al., 2007).

Calixto Júnior et al. (2010) ao avaliarem os efeitos do fornecimento de silagem de milho e de capim-elefante com inoculante bacteriano ou enzimo-bacteriano na alimentação de vacas em lactação observaram que as taxas de glicose e ureia foram normais, independente do volumoso utilizado, e os níveis de triglicerídeos ficaram abaixo do normal para os diferentes volumosos. Não houve diferença significativa entre os volumosos em relação aos níveis sanguíneos de ureia, glicose e triglicerídeos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

EXPERIMENTO 1

3.1. Efeito da aplicação de ocitocina exógena durante a ordenha sobre a produção de leite, cortisol sérico e metabolismo de vacas mestiças

3.1.1. Local, período e caracterização da propriedade

Para este estudo foram visitadas, entre setembro e outubro de 2012, cinco propriedades de produção de leite, localizadas na região sul do Estado do Rio de Janeiro.

Inicialmente foi aplicado um questionário com questões abertas e fechadas abordando em blocos os seguintes aspectos: propriedade (área, número de animais, tipo de mão de obra, finalidade da produção), produção (vacas em lactação, volume de produção), sanidade do rebanho (vacinas, histórico de enfermidades, controle de ecto e endoparasitos), manejo nutricional, higiênico e sanitário dos animais, bem como formas de identificação, prevenção e tratamento de doenças. Dados relativos à idade, data do parto, nível de produção e histórico dos animais individualmente também foram levantados.

Ao mesmo tempo se buscou abordar diferentes aspectos relacionados ao uso da OT durante a ordenha com ênfase na percepção dos produtores sobre a necessidade de seu uso e fatores relacionados (dose, forma e horário de aplicação, finalidade, efeito).

Adicionalmente foram abordados aspectos relativos às condições das instalações (curral, estábulo, sala de ordenha), higiene ambiental (condições e frequência da limpeza), água (origem, armazenamento), higiene e manejo da ordenha (tipo, número, horário, linha de ordenha, tempo, ordem dos animais, testes para detecção de mastite, pré e pós *dipping*), condições e higiene dos utensílios, dos animais e pessoas envolvidas na ordenha.

Cada entrevista foi seguida de visita às instalações para observação *in loco* das condições clínicas e de manejo dos animais, com ênfase no manejo da ordenha e dos animais. Dados divergentes quanto às informações prestadas pelos proprietários e verificadas *in loco* foram registrados, sendo considerados os fatos avaliados pela equipe.

Após as visitas os dados foram analisados e duas propriedades em que a OT era utilizada em todas as vacas em lactação durante as duas ordenhas diárias foram previamente selecionadas. Para a condução do estudo, foi escolhida uma propriedade em que as vacas com características relativamente uniformes de padrão racial (mestiças) e produção, recebiam diariamente duas doses de ocitocina (3 UI por dose), por via intravenosa no início e no meio da ordenha da manhã (05:30 a 08:00 horas) e da tarde (14:30 a 17:00 horas).

Como critério adicional esta propriedade foi escolhida pelo manejo alimentar, em que a alimentação seria mantida constante num período aproximado de 60 dias e sendo a ordenha mecanizada (82 vacas em lactação) houve a possibilidade de coletar o leite manualmente das vacas inseridas no experimento.

3.1.2. Animais

Inicialmente todas as vacas em lactação foram avaliadas quanto ao padrão racial e ocorrência de enfermidades.

A condição física individual dos animais foi avaliada através da observação visual, atribuindo-se ao escore de condição corporal (ECC), valores de 1,0 a 5,0 segundo Maciel (2006). O ECC foi utilizado em preferência à pesagem visto que de acordo com Dias (1991),

a condição corporal é mais adequada do que as mensurações de peso vivo, pois sua análise independe do tamanho e do estado fisiológico do animal.

A seguir foram avaliadas quanto à ocorrência de mastite clínica (exame físico da glândula mamária e teste da caneca de fundo escuro) e subclínica por meio do California Mastitis Test (CMT), na ordenha da manhã, após preparação higiênica do úbere e eliminação dos primeiros jatos de leite segundo Schalm e Noorlander (1957). Para esta finalidade foram mantidos os procedimentos e a rotina de ordenha da propriedade, com a finalidade de avaliar o comportamento das vacas durante a ordenha, anotando-se os resultados individuais em formulários específicos.

Foram selecionadas oito vacas mestiças (gir x holandês) com idade entre quatro e sete anos, de 60 a 120 dias de lactação, submetidas ao sistema de pastejo (*Urochloa decumbens* - *Brachiaria decumbens*) com suplementação de volumoso e concentrado durante duas ordenhas diárias (polpa cítrica, 2 kg/animal; farelo de trigo, 1 kg/animal) e nos intervalos das ordenhas (cevada – *ad libidum*), além de mistura mineral completa.

Para constituição dos grupos foram considerados os achados clínicos, a condição corporal, o padrão racial, a fase de lactação e o escore ao CMT.

Vacas com sinais ou manifestações clínicas de enfermidades, com ênfase em mastite clínica e enfermidades podais e ECC baixo foram excluídos.

3.1.3. Delineamento experimental

Foram selecionadas oito (08) vacas sem sinais de enfermidades, estado geral bom (ECC 3,0 a 3,5) e negativas ou com reação fraca (traços ou +) ao CMT em todos os quartos mamários, as quais foram divididas em dois quadrados latinos simultâneos, com quatro tratamentos e oito repetições.

Os tratamentos foram instituídos com base na forma de aplicação da OT nesta propriedade, a saber: 0,3 ml (3 UI), por via intravenosa no início e no meio de cada ordenha. Como controle foi utilizada a solução fisiológica (SF) em igual volume, pela mesma via e nos mesmos momentos. Desta forma os tratamentos instituídos foram os seguintes: T1: OT no início + OT no meio (OT/OT); T2: OT no início + solução fisiológica no meio (OT/SF); T3: solução fisiológica no início + OT no meio (SF/OT); T4: solução fisiológica no início + solução fisiológica no meio (SF/SF) de cada ordenha.

A inserção dos animais nos grupos bem como a ordem dos tratamentos foi feita por meio de sorteio. Os tratamentos foram trocados em intervalos de três dias, compreendendo oito ordenhas. No quadro 03 estão indicados os tratamentos e a dose diária de OT, considerando duas ordenhas por dia e a dose em cada ordenha.

Quadro 03: Tratamentos instituídos por grupos de acordo com o momento da ordenha e dose de ocitocina (OT) por ordenha e diária (total) em unidades internacionais (UI).

	Início da ordenha	Meio da ordenha	OT por ordenha	Total de OT
T1	OT	OT	6 UI	12 UI
T2	OT	SF	3 UI	6UI
T3	SF	OT	3 UI	6UI
T4	SF	SF	0 UI	0 UI

SF: Soro fisiológico.

Para identificação dos animais inseridos em cada grupo foi utilizado o nome que é bem estabelecido na propriedade e conhecido pelos ordenhadores, o registro fotográfico e a colocação de fitas coloridas no pescoço de acordo com o tratamento em cada momento.

3.1.4. Produção de leite

A produção de leite foi estimada na ordenha da manhã e da tarde (por ordenha e total do dia) em intervalos de três dias, que corresponderam ao primeiro e último dia do tratamento, utilizando-se de baldes graduados (figura 02) mensurando a quantidade de leite em litros, desprezando-se a espuma.



Figura 02: Vacas mestiças sendo ordenhadas manualmente, sem a presença do bezerro, novembro de 2012, Resende, RJ.

Ao fim da ordenha, após dois minutos foi mensurado o leite residual, em litros, através da injeção de 20 UI de OT por via intravenosa com nova ordenha manual um minuto após (PORCIONATO et al., 2009).

3.1.5. Comportamento

Os animais foram submetidos à observação visual de acordo com Hemsworth et al. (1994), Hargreaves; Hutson (1990), Boivi et al. (2002) e Waiblinger et al. (2004) para a avaliação do comportamento durante a ordenha.

As vacas foram observadas durante o tempo de espera, na entrada na sala de ordenha, na contenção e durante as duas ordenhas diárias. As observações foram realizadas a cada três dias correspondendo ao início e final de cada tratamento.

Para avaliação (mensuração) do comportamento durante a ordenha foram utilizados os modelos sugeridos por Del-Claro (2004) em amostragens focais, ou seja, por animal em intervalos de tempo determinados (ordenha individual). Um etograma foi preenchido no decorrer da ordenha de cada vaca individualmente.

3.1.6. Ocitocina, cortisol e bioquímica sérica

Amostras de sangue foram coletadas em frascos sem anticoagulante e frascos heparinizados, antes do início do período experimental e posteriormente no início e no final de cada tratamento.

O sangue colhido sem anticoagulante foi mantido inclinado em temperatura de 4°C por duas horas ou até a completa coagulação e retração do coágulo. A seguir foi centrifugado durante 15 minutos a 1500 RPM e alíquotas de 1,0 ml de soro foram armazenadas a 80 °C negativos até o momento do uso.

Alíquotas de soro foram descongeladas em temperatura ambiente e analisadas em espectrofotômetro digital automático (Bio Systems A15), utilizando-se kits comerciais para determinação dos valores séricos de colesterol, triglicérides, albumina, glicose e ureia além da atividade sérica da enzima aspartato aminotransferase¹, segundo especificação do fabricante bem como para dosagem de cortisol através da técnica de radioimunoensaio pela Universidade Federal do Rio de Janeiro.

3.1.7. Análise Estatística

Para todas as variáveis foram determinadas a média e o desvio padrão. A comparação entre dias e semanas dentro do grupo foi realizada empregando-se análise de variância (Anova) e a comparação entre as médias foi realizada pelo teste de Tukey. Para a comparação das médias de cortisol foi utilizado o teste T de Student. Para análise entre os grupos e nos diferentes tempos foi utilizada análise de variância para medidas repetidas e o pós-teste de Bonferroni para determinar onde as diferenças ocorreram.

EXPERIMENTO 2

3.2. Efeito da ocitocina exógena sobre o ganho de peso e metabolismo de novilhas

3.2.1. Local, Período e Animais

Este estudo foi conduzido com bovinos de corte da UFRRJ, entre outubro e novembro de 2012. O rebanho constituído de vacas mestiças Zebu x Red Angus, era manejado em piquetes de *Urochloa decumbens* (*Brachiaria decumbens*) segundo a categoria (novilhas, vacas gestantes e paridas), com idas ocasionais ao curral para vacinação, vermifugação e aplicação de produtos carrapaticidas.

Antes do início do experimento, todos os animais foram vermifugados a base de albendazole e receberam tratamento, a base de cipermetrina, tópico contra carrapatos. Todos estavam vacinados contra raiva e de acordo o calendário vacinal do estado do Rio de Janeiro ao final do período de avaliação ocorreu a vacinação de febre aftosa (22 de novembro de 2012).

3.2.2. Animais e Manejo

Foram selecionadas doze novilhas (2 a 3 anos), ½ a ¾ Zebu x Red Angus com peso médio inicial de 305 kg. Os animais mantidos em piquete de 10.000 m² formado com *Urochloa decumbens* (*Brachiaria decumbens*) foram conduzidos diariamente ao curral (Figura 03) para fornecimento de volumoso (capim colônia-*Panicum maximum*) picado no cocho (Figura 04).

¹ BioSystems® . Kits n° 11506, 11529, 11547, 11504, 11517, 11567 respectivamente

Inicialmente os animais foram pesados, identificados e mantidos em piquete separado dos demais animais do lote e do rebanho. Dos dias 1 a 15 as novilhas passaram por um período de adaptação no qual foram conduzidas diariamente pela manhã (07:00 às 08:00 horas) ao curral, passando diariamente pelo tronco de contenção (Figura 05) onde eram contidas por cerca de um minuto para se adaptarem ao contato humano e ao manejo no tronco.

A seguir eram soltas em uma área cercada (Figura 06) onde recebiam suplementação de volumoso (capim coloniã) e concentrado *Geramilk® Novilha* (Presence) comercial em quantidade equivalente a 1,5 kg de concentrado por animal por dia.



Figura 03: Área de espera anexa ao curral. Manejo antes do tronco de contenção. Vacas mestiças Zebu X Red Angus, outubro/novembro 2012, UFRRJ.



Figura 04: Área destinada ao manejo do gado (mestiço Zebu x Red Angus), demonstrando o cocho com volumoso (capim picado) e concentrado, outubro/novembro 2012, UFRRJ



Figura 05: Tronco de contenção anexo ao curral, outubro/novembro 2012, UFRRJ.



Figura 06: Área destinada ao manejo dos animais (curral) e cocho para fornecimento de alimentação suplementar, outubro/novembro 2012, UFRRJ.

Após adaptação os animais foram alocados aleatoriamente em dois grupos de seis, submetidos aos seguintes tratamentos: T1 – 20 UI (2 mL) de ocitocina (OT), por via intramuscular; T2 – 2 mL de solução fisiológica 0,85% (SF), por via intramuscular. Para esta finalidade, durante a contenção no tronco cada animal recebia o tratamento específico de acordo o grupo a que fora destinado.

A definição dos animais de cada grupo foi determinada por sorteio ao final da segunda semana de adaptação ao manejo no tronco e suplementação, no dia em que se iniciou a administração da OT ou do SF. O tratamento foi realizado diariamente por 15 dias (semanas 3

e 4) e por mais duas semanas (S5 e S6) os animais somente foram contidos no tronco para avaliação, e a seguir soltos para receber a suplementação como nas semanas anteriores.

3.2.3. Comportamento

Durante a contenção no tronco e alimentação as novilhas foram avaliadas quanto ao comportamento, o qual foi registrado em forma de vídeo.

3.2.4. Ganho de Peso

No dia em que se iniciou a manipulação dos animais no tronco (D1) e novamente nos dias 07, 14, 28, 35 e 42 foram feitas as pesagens dos animais com o auxílio de uma plataforma acoplada às barras da balança eletrônica (KM3) (Figura 07).



Figura 07: Balança eletrônica (KM3) utilizada para pesagem dos animais, outubro/novembro 2012, UFRRJ.

3.2.5. Ocitocina, cortisol e bioquímica sérica

Nos mesmos momentos das pesagens (dias 01, 07, 14, 21, 28, 35 e 42) amostras de sangue foram colhidas por venopunção da jugular, pela manhã (07:00 a 08:00 horas), em tubos à vácuo com e sem anticoagulante.

Amostras colhidas em frascos com anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) foram utilizadas para análise hematológica em contador automático no Laboratório de Patologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

O sangue colhido sem anticoagulante foi mantido inclinado em temperatura de 4°C por duas horas ou até a completa coagulação e retração do coágulo. A seguir foi centrifugado durante 15 minutos a 1500 RPM e alíquotas de 1,0 ml de soro foram armazenadas a 80 °C negativos até o momento do uso.

Alíquotas de soro foram descongeladas em temperatura ambiente e analisadas em espectrofotômetro digital automático (BIOSYSTEMS A15), utilizando-se kits comerciais para determinação dos valores séricos de colesterol triglicérides), albumina, glicose e ureia além da atividade sérica da enzima aspartato aminotransferase¹ segundo especificação do

¹BioSystems®. Kits nº 11506, 11529, 11547, 11504, 11517, 11567 respectivamente.,

fabricante, bem como o cortisol pela técnica de radioimunoensaio na Universidade Federal do Rio de Janeiro.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

EXPERIMENTO 1

4.1. Efeito da aplicação de ocitocina durante a ordenha sobre a produção de leite, cortisol sérico e metabolismo de vacas mestiças

4.1.1. Produção de leite

A produção de leite quanto à média diária e nas ordenhas da manhã e da tarde, bem como o leite residual total estão resumidos na tabela 01.

Tabela 01: Produção de leite (média em litros), na ordenha da manhã, da tarde, diária e leite residual total (volume e porcentagem) em vacas segundo os tratamentos instituídos e dose diária total de Ocitocina (OT) em unidades internacionais (UI).

	Tratamento	Duas ordenhas	Manhã	Tarde	Residual (vol./%)	OT
T1	OT/OT	13,62a	8,98a	4,64a	0,11a / 0,33a	12 UI
T2	OT/SF	12,89ab	8,90a	3,91ab	0,62ab / 4,37ab	6UI
T3	SF/OT	13,38a	9,00a	4,38ab	0,11a / 1,40a	6UI
T4	SF/SF	10,88b	7,44a	3,44b	2,66b / 16,77b	0 UI

OT: Ocitocina; SF: Soro fisiológico.

Números seguidos de letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa a 95%.

No volume de leite produzido em duas ordenhas observou-se diferença entre os tratamentos ($p=0,01741$) sendo a utilização de OT no início e no meio da ordenha (OT/OT) o tratamento mais eficiente quanto ao volume total de leite coletado, mas sem diferença significativa ($p>0,05$) em relação ao tratamento com OT no início (OT/SF) ou no meio da ordenha (SF/OT).

A aplicação de soro fisiológico nos dois momentos da ordenha (SF/SF) resultou em menor volume de leite coletado, com diferença significativa em relação ao tratamento com OT nos dois momentos (OT/OT) e somente no meio da ordenha (SF/OT). Contudo, o volume coletado mediante aplicação de soro nos dois momentos (SF/SF) não diferiu do volume ordenhado quando se utilizou OT no início e soro no meio da ordenha (OT/SF). Desta forma, quanto ao total de leite coletado a utilização de duas doses de OT durante a ordenha (início e meio – OT/OT) foi equivalente à utilização de OT somente no meio da ordenha (SF/OT), com 13,62 e 13,38 litros, respectivamente.

A aplicação de soro nos dois momentos (SF/SF) promoveu coleta de menos leite, em volume equivalente a 20,1% do leite total produzido com a utilização de OT/OT. O uso de OT no início (OT/SF) ou no meio (SF/OT) da ordenha também resultou em menor volume de leite ordenhado comparativamente ao tratamento com OT/OT. A OT no início (OT/SF) ou no meio (SF/OT) da ordenha promoveu a retirada de 5,4% e 1,8% menos leite que a OT/OT.

Ausência de diferença significativa entre os volumes de leite coletado nos tratamentos com OT/OT e SF/OT indica equivalência do uso de OT no início e no meio e somente no meio da ordenha, destacando-se que neste caso as doses de OT são diferentes: 3 UI (0,3 mL) em uma única aplicação e 6 UI (0,6 mL) em duas aplicações, elevando custo da produção.

O uso de OT nos dois momentos da ordenha resultou em maior volume de leite coletado na ordenha da tarde, com diferença significativa em relação ao soro fisiológico aplicado nos mesmos momentos ($p=0,048991$) e sem diferença em relação a OT no início ou

no meio da ordenha. Na ordenha da manhã os volumes de leite coletados foram equivalentes e sem diferença relevante entre tratamentos ($p=0,070848$).

O leite residual (em volume e porcentagem, média) foi maior no tratamento com soro fisiológico (SF/SF - 2,66 litros / 16,77%) e com o uso de OT no início da ordenha (OT/SF - 0,62 litros / 4,37%). Menores volumes e porcentagens de leite residual foram obtidos nos tratamentos OT/OT (0,11 litros / 0,33%), com diferença significativa quando comparado ao controle com SF/SF ($p=0,006312$) e OT no início da ordenha ($p=0,024167$) ou somente ao final ($p=0,036969$). Os tratamentos OT/SF (0,62 litros / 4,37%) e SF/SF foram equivalentes ou sem diferença estatisticamente significativa.

O melhor efeito com o uso de OT no meio da ordenha, comparativamente ao uso desse hormônio no início se justifica como proposto por Nickerson (1992), Coelho (2009) e Wattiaux (2011) pelo tempo de ação e curta duração do efeito da OT liberada fisiologicamente em resposta a ativação neuroendócrina no início da ordenha. De acordo com Nickerson (1992) a reação ao estímulo e produção de OT pelo hipotálamo ocorre nos primeiros dois minutos após o estímulo e continua por aproximadamente seis a oito minutos segundo Bruckmaier (2001).

Ainda segundo Nickerson (1992) a produção de OT contínua por um período de até oito minutos depois do estímulo, tempo suficiente para a ordenha completa. No entanto para uma adequada retirada do leite a OT precisa ser mantida em concentração elevada durante toda a ordenha (BRUCKMAIER; BLUM, 1996; BRUCKMAIER, 2001) e na presença de estímulos negativos, somente uma fração do leite é coletada (WATTIAUX, 2011). Assim, a aplicação de OT no meio da ordenha pode garantir o nível adequado ou necessário de OT para remoção eficiente do leite, sendo a aplicação no início desnecessária se o estímulo for adequado e a ordenha iniciada imediatamente após a estimulação.

Produção menor de leite na ordenha da tarde se justifica pelo menor intervalo de tempo entre ordenhas como apontado por Bruckmaier (2001).

Quanto à necessidade do uso da OT em dois momentos da ordenha, um dos questionamentos que motivou a condução do presente estudo, os dados indicam que tanto OT/OT quanto OT ao final da ordenha (SF/OT) são equivalentes.

Ao longo dos dias não houve diferença significativa no volume total de leite produzido em relação aos diferentes tratamentos ($p>0,05$), contudo observou-se produção menor e mais leite residual nos dias em que o tratamento foi mudado, especialmente de OT/OT ou SF/OT para SF/SF e OT/SF sugerindo uma adaptação ou que as vacas podem ser manejadas de forma a reduzir a dependência de OT exógena como proposto por Wattiaux (2011).

Rushen et al. (1999) e Porcionato et al. (2009) reforçaram a importância do início da ordenha imediatamente após os primeiros estímulos, em função da rápida resposta de liberação da OT e ordenha em condições adequadas, visto que o reflexo de ejeção pode ser inibido por estímulos estressores que levam à liberação da adrenalina, cuja ação é antagônica à da OT cuja falta ou baixa concentração faz com que fração pequena de leite seja coletada (BREAZILE, 1988). A retenção de leite ocorreu especialmente na aplicação de soro (SF/SF) e em menor escala na aplicação de OT ao início da ordenha (OT/SF). Neste estudo, porém não se observou condições ambientais ou de manejo indutoras de estresse antes ou durante a ordenha ou manejo aversivo como relatado por Hötzel et al. (2005) em que pode ocorrer alto volume de leite residual.

É suposto que algumas vacas zebuínas retenham alto volume de leite residual (MURUGAIYAH et al., 2001). Com essa premissa a aplicação de ocitocina como forma de substituir a mamada do bezerro durante a ordenha de vacas mestiças tornou-se disseminada, ainda que não haja consenso sobre essa prática. Foi demonstrado por Negrão e Marnet (2002) que vacas mestiças (Gir x Holandesa), como neste estudo liberaram OT durante a ordenha

semelhante à liberação durante a amamentação/ordenha combinadas o que sugere não ser necessário o uso de OT.

O leite residual aferido como proposto por Porcionato et al. (2009) e expresso em porcentagem (%) em relação ao total segundo Hötzel et al. (2005) foi significativamente maior nas vacas que não receberam OT ou receberam no início da ordenha (Tabela 01).

Heald (1985) relatou que de 10 a 20 % do leite no úbere no início da ordenha normalmente permanece na glândula mamária como leite residual. Neste sentido, o maior volume e porcentagem de leite residual observado no tratamento com soro (SF/SF – 2,66 litros / 16,77%) ficou dentro dos limites (10 a 20%) sugeridos por Heald (1985), porém muito abaixo dos 70% relacionados por Hötzel et al. (2005) em condições de manejo aversivo.

É bastante discutido o efeito do estresse sobre os processos fisiológicos como a descida do leite nos bovinos durante a ordenha. Como condição de estresse neste estudo, sugere-se a aplicação intravenosa de OT e/ou soro, situação esta habitual na propriedade em que a OT já era utilizada em todas as vacas, em dois momentos da ordenha, e nenhuma medida habitual de manejo foi considerada inadequada. Inclusive as vacas mantinham-se tranquilas na área em que aguardavam a entrada na sala de ordenha (figura 08) e a contenção era feita de forma tranquila, sem sinais de ansiedade ou reatividade por parte das vacas.

Questiona-se se a intervenção para aplicação da OT e/ou SF durante a ordenha e coleta de sangue seriam os fatores de estresse e se haveria uma dependência da OT exógena para a ejeção do leite.

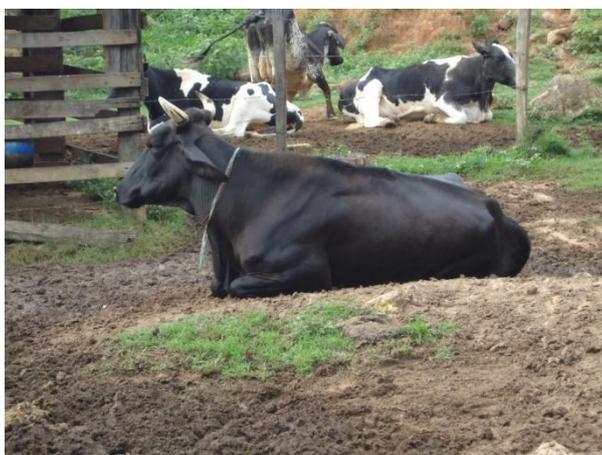


Figura 08: Vaca mestiça ruminando enquanto aguardava a ordenha na área de espera, outubro/novembro 2012, Resende, RJ.

4.1.2. Comportamento

Sendo quatro tratamentos (OT/OT, OT/SF, SF/OT, SF/SF) com avaliações no início e ao final de cada período de tratamento seriam 16 observações, no entanto obteve-se um total de 14 avaliações do comportamento em que foram observados: vocalização, micção, defecação e reatividade durante as ordenhas de cada vaca individualmente como indicado no Quadro 04.

Foi sugerido que o comportamento vocal dos bovinos pode ser utilizado como indicador da sua condição fisiológica e mental (WATTS; STOOKEY, 2000) e segundo Santos (2005) pode indicar uma condição de estresse agudo. Neste estudo a vocalização não foi evidenciada durante a ordenha de nenhuma vaca em nenhum dia de avaliação.

Micção e defecação foram evidenciadas em seis e oito observações (Quadro 04), respectivamente. A micção foi mais frequente nos tratamentos SF/OT (n=3) e OT/SF (n=2). Defecação foi observada nos tratamentos OT/SF (n=2), SF/SF (n=2) e SF/OT (n=1), e foi mais frequente na aplicação de OT nos dois momentos da ordenha (n=3).

Quadro 04: Frequência de observações dos comportamentos vocalização, micção, defecação e reatividade segundo os tratamentos com ocitocina (OT) e/ou soro fisiológico (SF) no início e/ou no meio (início/meio) da ordenha em vacas mestiças.

Comportamento	OT/OT	OT/SF	SF/OT	SF/SF
Vocalização				
Sim	0	0	0	0
Não	14	14	14	14
Micção				
Sim	0	2	3	1
Não	14	12	11	13
Defecação				
Sim	3	2	1	2
Não	11	12	13	12
Reatividade				
Sim	5 (1xI, 3xII, 1xIII)	3 (2xII, 1xIII)	3 (1xI, 2xII)	1 (1xIII)
Não	9	11	11	13

Reatividade: I- sem movimentação/ II- movimentando os posteriores, levantando até 15 cm do solo/ III- movimentando os posteriores, levantando em direção ao ordenhador.

De acordo com Santos (2005) e Hötzel et al. (2009) a defecação e a micção ocorrem quando as vacas se encontram num estado de estresse agudo. Assim, esses comportamentos podem ser atribuídos pelo menos parcialmente ao estresse decorrente da intervenção para aplicação de OT e/ou SF e coleta de sangue.

Reatividade definida como conjunto de reações dos animais frente ao manejo ocorreu em todos os tratamentos, e com maior frequência na aplicação de OT/OT (n=5) e OT somente no início (n=3) ou no meio da ordenha (n=3).

A reação mais comum segundo classificação proposta por Peters et al. (2010) consistiu em movimentação dos membros, sem levanta-los acima de 15 cm do solo (II) e membros em direção ao ordenhador (III) com sete e três observações, respectivamente.

Diferentes autores (ROSA; PARANHOS DA COSTA, 2007; HÖTZEL et al., 2009; PETERS et al., 2010) apontam que a reatividade pode ocorrer em qualquer momento da ordenha. Neste estudo avaliou-se a reatividade desde a contenção dos animais até a saída da sala de ordenha e esta foi mais frequente no momento da aplicação da OT e/ou SF (figura 09), o que sugere desconforto e condição de estresse associada a este processo como apontado por Pajor et al. (2003) e Hötzel et al. (2005) em diversos procedimentos de rotina na criação de bovinos de leite. Alguns desses trabalhos sugerem que isso pode interferir com a produção leiteira, através do aumento do leite residual (RUSHEN et al., 1999; BREUER et al., 2000).



Figura 09: Vaca mestiça durante a ordenha, reativa no momento da aplicação de ocitocina, outubro/novembro 2012, Resende, RJ.

A contenção e a manipulação de vacas no seu ambiente de ordenha, como fator de estresse e perturbação do comportamento foi avaliada por Hötzel et al. (2009). Vacas leiteiras, mantidas em sistema intensivo de pastoreio rotativo e duas ordenhas diárias foram expostas a um minucioso exame clínico, durante três dias consecutivos. Dados comportamentais antes e depois do procedimento demonstraram forte aversividade. Os autores concluíram que procedimentos veterinários no ambiente da ordenha influenciam o comportamento das vacas durante a ordenha ou sua reatividade ao homem. Assim, com os dados obtidos no presente estudo, considera-se que mais experimentos são necessários para comprovar o efeito da aplicação de OT durante a ordenha como condicionantes de estresse aos animais, bem como a efetividade dessa medida nos sistemas de produção de leite.

4.1.3. Cortisol sérico

Diversos trabalhos relacionam valores séricos de cortisol em bovinos em diferentes condições (HEIN; ALLRICH, 1992; LEFCOURT; ELSASSER, 1995; LENSINK et al., 2000; ARAGON et al., 2001; VASQUEZ; HERRERA, 2003; YOSHIDA; NAKAO, 2005; REIS et al., 2006; CAMPOS; LACERDA; GONZALEZ, 2008), contudo a variação entre os valores é muito ampla, provavelmente em consequência das condições específicas em que cada estudo foi conduzido, da raça e do manejo dos animais, além da metodologia utilizada para determinação do cortisol.

Mesmo entre livros-texto os valores de cortisol sérico em bovinos são divergentes. Kaneko et al. (1997) consideram que os valores basais de cortisol sanguíneo em bovinos variam fisiologicamente entre 0,4 a 1,3 $\mu\text{g}/\text{dL}$. Para Radostitis et al. (2002) os valores referenciais para a espécie variam entre 0,45 e 0,75 $\mu\text{g}/\text{dL}$. Desta forma não há um padrão para comparação dos dados obtidos neste estudo, os quais foram normais, aumentados ou diminuídos segundo os diferentes relatos.

Nas condições do presente estudo o cortisol variou de 0,3 $\mu\text{g}/\text{dL}$ em duas vacas nos tratamentos SF/OT e OT/SF a 5,2 $\mu\text{g}/\text{dL}$ em outra vaca no tratamento SF/SF, portanto abaixo e acima dos valores de referência descritos por Kaneko et al. (1997) e Radostitis et al. (2002).

Os valores médios, máximos, mínimos e o desvio padrão do cortisol sérico por tratamento estão representados no Quadro 05.

Quadro 05: Média, desvio padrão e valores máximos e mínimos de cortisol sérico ($\mu\text{g/dl}$) em relação aos tratamentos e dose diária total de ocitocina (OT) em unidades internacionais (UI).

	Tratamento	Cortisol (Média)	Desvio Padrão	Máximo	Mínimo	OT (UI)
T1	OT/OT	2,2a	0,949	3,7	1,2	12
T2	OT/SF	2,55a	1,68	5	0,3	6
T3	SF/OT	2,13a	1,22	3,5	0,3	6
T4	SF/SF	2,14a	1,68	5,2	0,5	0

OT: Ocitocina; SF: Soro fisiológico.

Números seguidos de letras semelhantes na coluna de cortisol indicam ausência de diferença significativa a 95%.

A média do cortisol sérico em todos os tratamentos foi superior aos indicados por Kaneko et al. (1997) e Radostitis et al. (2002) como de referência para a espécie e não se observou diferença significativa ($p=0,8751$), entre os tratamentos, sendo as médias mais elevadas observadas com o uso da OT no início ($2,55 \mu\text{g/dL}$) e nos dois momentos da ordenha ($2,2 \mu\text{g/dL}$), e as mais baixas nos tratamentos com SF/SF ($2,14 \mu\text{g/dL}$) e SF/OT ($2,13 \mu\text{g/dL}$).

Os valores obtidos foram superiores aos encontrados por Hein e Allrich (1992) em animais submetidos à colheita de sangue e administração de veículo aquoso intravenoso, no qual o valor sérico médio de cortisol foi de $12,4 \text{ ng/mL}$ ou $1,24 \mu\text{g/dL}$.

Também Yoshida e Nakao (2005) relatam níveis de cortisol elevados em animais submetidos apenas à colheita de sangue. Os valores médios obtidos pelos autores antes e após a colheita de sangue e administração de veículo aquoso intravenoso foram menores que $0,5 \mu\text{g/dL}$ e maiores que $1,0 \mu\text{g/dL}$, respectivamente.

No presente estudo vacas em lactação submetidas à aplicação intravenosa de OT e/ou SF durante a ordenha e colheita de sangue após, obteve-se médias de cortisol acima de $2,0 \mu\text{g/dL}$ em todos os tratamentos. Aragon et al. (2001) e Vasquez e Herrera (2003) relataram média de cortisol de $3,29 \mu\text{g/dL}$ para zebuínos usados como controle em experimento em que avaliaram o efeito da suplementação com cromo em animais submetidos ao estresse térmico. Valores médios de cortisol de $3,68 \mu\text{g/dL}$, portanto próximos dos citados por Aragon et al. (2001) e Vasquez e Herrera (2003), e acima dos obtidos no presente estudo foram relatados por Reis et al. (2006) em bovinos da raça Nelore do grupo controle em experimento em que avaliaram o estresse da manipulação.

Valores abaixo ($1,77 \mu\text{g/dL}$ e $1,87 \mu\text{g/dL}$, respectivamente no grupo controle e tratados), porém relativamente próximos aos desse estudo foram obtidos, em animais que sofreram a estimulação prévia com dexametasona e ACTH (LENSINK et al., 2000). A estimulação com ACTH visa avaliar a sensibilização da hipófise e/ou córtex adrenal, em condições de estresse crônico e o teste de inibição pela dexametasona demonstra eficiência reduzida da retroalimentação negativa sobre a liberação de ACTH pela hipófise (MORMÈDE et al. 2006).

Há evidências que animais cronicamente estressados não reagem ao ambiente como o animal normal. Reatividade e apatia foram relatadas em vitelas submetidas à instabilidade social (BOISSY et al. 2001) revelando diferentes graus de controle sobre as condições de estresse ambiente e efeitos diversos sobre a resposta fisiológica e níveis de cortisol sérico.

Sant'anna e Paranhos da Costa (2010) ao revisarem os aspectos clínicos, fisiológicos e comportamentais relacionados ao bem-estar animal, relacionaram os valores séricos de cortisol como um dos indicadores fisiológicos de bem-estar. Assim, valores elevados indicam condição de estresse e bem-estar ruim.

Resultados obtidos por Hemsworth et al. (2000) demonstraram que a interação negativa entre o retireiro e vaca, durante a ordenha, foi significativa e negativamente correlacionada com a produção de leite, e significativa e positivamente correlacionada com a

concentração de cortisol. Neste contexto, a interação homem-animal no presente estudo não foi caracterizada como negativa ou aversiva, exceto nos momentos de aplicação da OT e/ou SF em que se observou a reatividade dos animais aos retireiros ou veterinários da equipe.

Sendo o cortisol o principal hormônio indicador de estresse (KNIGHTS et al., 2006; BOND et al., 2012), a ausência de diferença estatisticamente significativa entre tratamentos indica que os valores elevados de cortisol em todos os grupos não devem ser atribuídos ao produto em teste (OT ou SF).

Em diferentes estudos os valores elevados de cortisol em vacas em lactação foram relacionados ao estresse de manejo e procedimentos como colheita de sangue e aplicação intravenosa de medicamento, o que pode justificar os valores elevados no presente estudo.

4.1.4. Bioquímica sérica

Variações dos metabólicos sanguíneos em vacas leiteiras permitem estimar o processo de adaptação metabólica a novas situações fisiológicas ou de alimentação. De acordo com Christensen et al. (1994), o metabolismo ruminal, a absorção intestinal, o transporte sistêmico, o metabolismo sistêmico, a secreção e a deposição de gordura no organismo são aspectos diretamente ligados ao metabolismo de lipídios e podem influenciar os parâmetros sanguíneos. Entretanto, é preciso considerar que, além da fase de lactação, o nível de produção também reflete mudanças no padrão do perfil metabólico em vacas em produção.

Quanto aos parâmetros bioquímicos avaliados não se observou diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos para nenhum dos parâmetros.

Para albumina, PPT, colesterol e atividade sérica da enzima AST os valores médios durante o tratamento foram inferiores aos verificados antes dos tratamentos (Tabela 02), os quais foram altos (colesterol – 201,6 mg/dL; AST -126,4 U/L), baixos (triglicerídeos – 13,1 mg/dL, albumina – 2,9 g/dL) ou normais (PPT – 7,79 g/dL; ureia – 24,9 mg/dL) de acordo com os valores referenciais para a espécie.

Vale ressaltar que antes do período experimental, de acordo com o manejo da propriedade, todos os animais recebiam ocitocina (3 UI) no início e meio da ordenha, durante todo o período de lactação.

Tabela 02: Média dos valores séricos de albumina, colesterol, triglicerídeos, proteína plasmática total (PPT), ureia, e atividade da enzima aspartato aminotransferase (AST) em vacas mestiças em lactação antes do início dos tratamentos com ocitocina e/ou solução fisiológica, Resende, Rio de Janeiro, outubro de 2012.

Albumina g/dL	Colesterol mg/dL	Triglicerídeos mg/dL	AST U/L	PPT g/dL	Ureia mg/dL
2,9	201,6	13,1	126,4	7,79	24,9

A) Proteínas plasmáticas

Para as proteínas totais a média geral antes do início do período experimental foi de 7,79 g/dL. Durante os tratamentos, o menor valor (média) foi obtido nas vacas dos grupos OT/OT (5,9) e SF/SF (5,9), chegando a 6,52 no grupo SF/OT (Tabela 03).

Considerando a média geral dos animais ao final do tratamento (6,13 g/dL) constata-se uma redução em relação ao valor inicial, mantendo-se abaixo do limite fisiológico (7,0-8,5 g/dL) estabelecido por Duncan e Prasse (1982), Jain (1993), Kaneko et al. (1997), Radostitis et al. (2002) e González e Silva (2006) para a espécie.

Tabela 03: Média, desvio padrão, variância e valores máximos e mínimos de proteínas plasmáticas totais (PPT - g/dL) em vacas mestiças em lactação segundo os tratamentos com ocitocina e/ou solução fisiológica, antes e no meio da ordenha, Resende, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.

Tratamento	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
SF/SF	5,91	2,03	2,7	8,2
OT/SF	6,10	1,91	3,2	8,3
SF/OT	6,52	2,15	2,2	9,1
OT/OT	5,91	2,21	3,1	9,0

Entre tratamentos valor de $p=0,893377$

Valores de referência: $6,97 \pm 0,53$ g/dL (COLES, 1993); 6-8g/dL (ROSEMBERGER, 1979); 6,7-7,5 g/dL (SMITH,2006); 5,7-8,1g/dL (RADOSTITS, 2002)

Em todos os períodos os valores obtidos ficaram dentro dos limites ($8,26 \pm 3,43$ g/dL), obtidos por Haida et al. (1996) ao avaliarem o perfil hematológico de vacas da raça holandesa em diferentes fases de lactação, porém abaixo dos limites estabelecidos por González et al. (1996) que foi de 6,6 a 7,5 g/dL e por Souza (1997) que avaliou o perfil de vacas holandesas, gir e girolanda obtendo valores de PPT de 7,57; 7,02 e 7,38 g/dL, respectivamente para as raças estudadas. Também foram próximos, mas inferiores aos citados por Barros Filho (1995), que foram 6,79g/dL e $6,76 \pm 0,41$, respectivamente.

As proteínas totais são utilizadas para avaliação do *status* nutricional relacionado ao aporte proteico, além de indicar a funcionalidade hepática de acordo com González e Silva (2006). Neste sentido, como os tratamentos foram realizados em curto espaço de tempo (3 dias por tratamento), as variações observadas para proteínas plasmáticas não devem ser atribuídas aos tratamentos, mas à demanda para a lactação.

B) Albumina

A albumina sérica de vacas mestiças em lactação neste estudo variou entre 0,7 e 3,3 com média entre 1,98 e 2,35 g/dL nos grupos OT/OT e SF/OT, respectivamente (Tabela 04). Comparativamente aos valores iniciais (antes do período experimental), houve a exemplo da proteína total, um decréscimo, não justificável pelos tratamentos.

Os valores médios encontrados para albumina nos diferentes tratamentos e antes do período experimental foram inferiores ao limite mínimo proposto por Duncan e Prasse (1982) que é de 2,5 g/dL e por Smith (2006) que é de 3,0 g/dL.

Da mesma forma que as PPT, a albumina está com valores reduzidos na desnutrição e em doenças gastrintestinais crônicas, nas quais há interferência na digestão e na absorção de proteínas ou nas hepatopatias crônicas (RADOSTITIS et al., 2002; SMITH, 2006). Assim, os achados referentes aos baixos valores de albumina devem ser reavaliados com a finalidade de identificar o fator causal.

Tabela 04: Média, desvio padrão, variância e valores máximos e mínimos de albumina (g/dL) em vacas mestiças em lactação segundo os tratamentos com ocitocina e/ou solução fisiológica, antes e no meio da ordenha, Resende, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.

Tratamento	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
SF/SF	2,18	0,78	0,9	3,2
OT/SF	2,28	0,70	1,3	3,1
SF/OT	2,35	0,77	0,7	3,3
OT/OT	1,98	0,65	0,9	2,8

Entre tratamentos valor de $p=0,63846$

Valores de referência: 3,4g/dL (COLES, 1993); 3-4g/dL (ROSEMBERGER, 1979); 2,1-3,6g/dL (RADOSTITS, 2002); 3-3,6g/dL (SMITH, 2006)

C) Colesterol

Kaneko et al. (1997) indicam como adequados para bovinos sadios teores séricos de colesterol no sangue entre 80 e 120mg/dL. Pogliani (2006) constatou uma grande variação dos níveis séricos referenciados, principalmente em relação à idade, ao parto e puerpério. Costa (1991) estudou a influência do puerpério sobre o colesterol sérico em vacas Holandesas e encontrou teores mais elevados no pré-parto ($96,2 \pm 19,9$) e entre 20 e 30 dias após o parto ($133,0 \pm 25,8$). Níveis mais baixos foram relacionados por Borges et al. (2001) em estudo envolvendo vacas superovuladas (87,9 mg/dl) e durante o ciclo estral normal (85,9 mg/dl).

Ruas et al. (2000) confirmaram a influência da produção e condição metabólica sobre as concentrações de colesterol no plasma ao obterem valores mais elevados em vacas de maior produção de leite. Os valores obtidos por Ruas et al. (2000) foram próximos dos valores médios encontrados neste estudo antes do período experimental (201,6 mg/dL), e mais altos que os citados por Pogliani (2006) e Costa (1991) em vacas em lactação.

Durante o período de experimento observou-se um decréscimo no colesterol (Tabela 05) para valores similares aos encontrados por Suva et al. (1980) e Souza (2005). Porém ainda muito alto (de 138,08 a 175 mg/dL) podendo-se justificar o decréscimo para redução da demanda em função da evolução do período de lactação. Como indicado por Vanden et al. (1996) e Galvis et al. (2003) o colesterol aumenta durante a lactação até a oitava semana, sendo relativamente constante a partir desse período. Também Rukkwamsuk et al. (1999) e Ceballos et al. (2002) relacionaram a concentração de colesterol no sangue com a lactação, sendo os valores mais baixos no início da lactação, e aumentados no decorrer da lactação. Em conformidade com as observações desses autores, os valores de colesterol decresceram ao longo do período, sendo mais alto no início. Destaca-se que todas as vacas avaliadas estavam em lactação, porém já após o pico de produção, quando os valores seriam mais elevados.

Dados obtidos em ratos (SUVA et al., 1980) justificam parcialmente os resultados do presente estudo em que os níveis de colesterol diminuíram em relação ao momento anterior ao experimento, sendo a maior queda do colesterol (de 201,6 para 108,67 mg/dL) com duas doses de OT (OT/OT). Vale ressaltar que a dose de ocitocina utilizada por Suva et al. (1980) foi muito superior à utilizada neste estudo, os eventuais efeitos da OT nas vacas avaliadas se fazem sentir após períodos de tratamento em que deixaram de receber a dose diária da OT. Assim, para uma avaliação mais precisa considera-se que seriam necessários estudos em que os animais (vacas) jamais tivessem sido tratados com este hormônio ou que passassem por um período mais prolongado sem o uso da OT.

Tabela 05: Média, desvio padrão, variância e valores máximos e mínimos de colesterol (mg/dL) em vacas mestiças em lactação segundo os tratamentos com ocitocina e/ou solução fisiológica, antes e no meio da ordenha, Resende, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.

Tratamento	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
SF/SF	138,08	59,86	30	222
OT/SF	140,25	60,95	76	245
SF/OT	175,00	80,15	79	283
OT/OT	108,67	41,19	53	169

Entre tratamentos valor de $p=0,091166$ Valores de referência: 50-150mg/dL (ROSEMBERGER, 1979); 65-220mg/dL (RADOSTITS, 2002); 80-120mg/dL (SMITH, 2006)

Para González e Rocha (1998) elevados níveis plasmáticos de colesterol seriam indicadores da capacidade da vaca para produzir mais leite, uma vez que reflete a capacidade de mobilização de gordura corporal para a lactogênese.

D) Triglicerídeos

Triglicerídeos séricos são bons indicadores metabólicos nutricionais em bovinos uma vez que refletem a mobilização de reservas corporais e a capacidade hepática de metabolização (OSÓRIO; VENZAÇO, 2010).

Estudos recentes indicam que a ocitocina está implicada no metabolismo de energia (MAEJIMA et al., 2008; 2011; TAKAYANAGI et al., 2008; CAMERINO, 2009; ZHANG; CAI, 2011; MORTON et al., 2011). Em animais obesos, os pesquisadores descobriram que injeções diárias de ocitocina diminuiram o consumo de comida, como também reduziram o peso corporal (MAEJIMA et al., 2008). Os resultados indicam que a ocitocina é um importante regulador central da homeostase energética (MORTON et al., 2011).

Para os índices de triglicerídeos houve um aumento em relação à média obtida antes do período experimental, bem acima dos valores citados por Rennó Neto (2004), Souza (2005) e Pogliani e Birgel Junior (2007). Os níveis foram relativamente constantes, entre 73,3 e 79,42 mg/dL (Tabela 06, Figura 10) e sem diferença significativa entre os tratamentos

Tabela 06: Média, desvio padrão, variância e valores máximos e mínimos de triglicerídeos (mg/dL) em vacas mestiças em lactação segundo os tratamentos com ocitocina e/ou solução fisiológica, no início e no meio da ordenha, Resende, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.

Tratamento	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
SF/SF	76,50	47,96	26	138
OT/SF	73,33	52,57	28	166
SF/OT	79,42	55,48	28	168
OT/OT	78,42	57,34	26	171

Entre tratamentos valor de $p=0,091165$

Valores de referência: 15-45mg/dL (ROSEMBERGER, 1979); 0-14mg/dL (RADOSTITS, 2002)

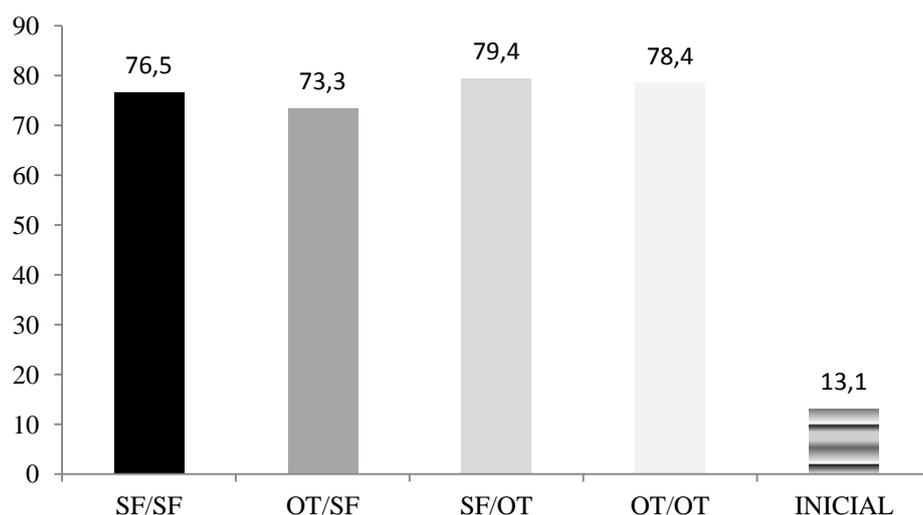


Figura 10: Valores médios de triglicerídeos séricos (mg/dL) em vacas mestiças Holandês x Gir em lactação segundo os tratamentos com ocitocina (OT) e/ou solução fisiológica (SF), no início e/ou meio da ordenha, Resende, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.

Suva et al. (1980) avaliaram o efeito da aplicação subcutânea de ocitocina sobre os níveis de ácidos graxos não esterificados (AGNE), triglicéridos, colesterol e glicose em ratos alimentados e em jejum, de ambos os sexos, em doses de 2,5 e 5 UI/kg. Nos animais alimentados a menor dose produziu uma diminuição, nos níveis de triglicérides, mais significativa na dose maior. Observaram uma tendência de queda dos níveis de colesterol em machos e fêmeas e na glicemia de forma diferenciada segundo o sexo e condição (alimentados ou jejum).

Por outro lado os triglicerídeos aumentaram em todos os tratamentos (Tabela 06) com a maior elevação nos grupos SF/OT (de 13,10 para 79,42 mg/dL) e OT/OT (13,10 para 78,42 mg/dL). A elevação dos triglicerídeos ocorre segundo Kaneko et al. (1997) e Herdt (2000) nos períodos de grande mobilização de lípidos e elevada concentração de AGNE durante a lactação, e a síntese de triglicerídeos no fígado é maior nas vacas alimentadas com dieta altamente energética (RUKKWAMSUK et al., 1999).

E) Ureia

Os valores encontrados para a ureia não variaram significativamente em relação ao nível encontrado antes dos tratamentos (24,9 mg/dL).

Ureia sérica (Tabela 07) foi mais elevada no tratamento com duas doses de OT (OT/OT). Em todos os tratamentos os níveis de ureia ficaram dentro dos limites estabelecidos por Duncan e Prasse (1982), Kaneko et al., (1997), González e Silva (2006) para os quais o nível sanguíneo de ureia tido como normal para a espécie bovina é menor de 65 mg/dL.

Tabela 07: Média, desvio padrão, variância e valores máximos e mínimos de ureia (mg/dL) em vacas mestiças em lactação segundo os tratamentos com ocitocina e/ou solução fisiológica, antes e no meio da ordenha, Resende, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.

Tratamento	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
SF/SF	24,42	8,24	11	37
OT/SF	23,50	4,58	17	30
SF/OT	22,67	8,06	14	39
OT/OT	25,58	6,42	12	36

Entre tratamentos valor de $p=0,763847$

Valores de referência: 6-27mg/dL (COLES, 1993); 10-40mg/dL (ROSEMBERGER, 1979); 6-27mg/dL (RADOSTITS, 2002); 20-30mg/dL (SMITH, 2006)

Gregory et al. (2004) estabeleceram como referência para vacas da raça Jersey teor sérico de uréia de $28,35 \pm 10,94$ mg/dL, bem próximo dos valores médios obtidos neste estudo, os quais foram normais segundo esses autores.

Em vacas leiteiras, a ureia no sangue, pode se elevar pela degradação de proteína no rúmen, e pela degradação de proteína nos tecidos (KANEKO et al., 1997). A redução da ingestão de energia age inversamente, devido à diminuição da síntese proteica por microrganismos no rumem, elevando a concentração de ureia sanguínea (WITTWER, 2000; OLTNER; WIKTORSSON, 1983).

Esperava-se como demonstrado em ratos, um efeito ainda que discreto da OT, em função da dose baixa, sobre a atividade metabólica, com redução da ingestão de alimentos e aumento do catabolismo e potencial efeito sobre os níveis de ureia no sangue. Embora a ureia tenha se elevado mais no grupo tratado com OT em dois momentos da ordenha, os valores entre grupos não apresentaram diferença significativa ($p=0,7638$). Os níveis de ureia neste estudo não permitem nenhuma conclusão ou sugestão sobre os efeitos da OT em doses baixas em vacas durante a lactação.

F) Aspartato aminotransferase (AST)

Para a atividade sérica da enzima AST o valor mais baixo ocorreu no grupo OT/OT, semelhante ao grupo tratado com SF/SF (Tabela 08), e sem diferença significativa em relação aos demais tratamentos. Os valores mínimos em todos os tratamentos foram normais para bovinos (20 a 34 UI/L) segundo Kaneko et al. (1997).

Gregory et al. (1999) relataram que os valores referenciais para AST em vacas da raça Jersey entre 48 e 72 meses de idade foram de $38,60 \pm 11,24$ UI/L. Para vacas adultas da mesma raça, Souza et al. (2004) encontraram valores acima ($49,27 \pm 17,87$ UI/L) da faixa de variação descrita por Gregory et al. (1999) e para a raça Holandesa os valores foram menores ($34,76 \pm 10,61$ UI/L).

Wittwer (2000) sugere valores de até 120 UI/L em condições de funcionamento normal do fígado. Assim os valores médios encontrados sugerem que o tratamento com OT não influenciou a função hepática.

Tabela 08: Média, desvio padrão, variância e valores máximos e mínimos da atividade sérica da enzima aspartato aminotransferase (AST – U/L) em vacas mestiças em lactação segundo os tratamentos com ocitocina e/ou solução fisiológica, antes e no meio da ordenha, Resende, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.

Tratamento	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
SF/SF	78,25	27,47	35	126
OT/SF	92,67	38,08	40	160
SF/OT	104,25	57,15	34	240
OT/OT	74,17	30,91	21	130

Entre tratamentos valor de $p=0,249551$

Valores de referência: 20-34UI/L (COLES, 1993); 10-50 UI/mL (ROSEMBERG, 1979); 78-132UI/L (RADOSTITS, 2002); 27-107UI/L (SMITH, 2006)

EXPERIMENTO 2

4.2. Efeito da OT exógena sobre o ganho de peso e metabolismo de novilhas

4.2.1. Comportamento

Neste estudo conduzido com novilhas mestiças (Zebu X Red Angus), com a finalidade de avaliar o comportamento, o ganho de peso e o metabolismo de novilhas não lactentes, observou-se que durante as semanas de adaptação os animais passaram de um comportamento agitado e agressivo para tranquilo durante a condução do pasto ao curral e manejo no tronco.

No período em que foram mantidos no curral para alimentação suplementar no cocho, não se observou mudança significativa de comportamento, sendo que desde o primeiro dia duas novilhas, uma em cada grupo de tratamento (OT e SF) manifestaram comportamento agressivo no momento da alimentação, nitidamente competindo por espaço no cocho e alimentação, inclusive de forma a inibir a aproximação de outros animais. Este comportamento segundo Paranhos da Costa e Nascimento Jr. (1986) é típico de dominância, um comportamento comum na forma de organização social da espécie.

Pela manutenção do comportamento de dominância ao longo de todos os dias de avaliação, as demais novilhas não evidenciaram mudança de comportamento que pudesse ser atribuída ao tratamento com OT. Nem mesmo a novilha com comportamento típico de dominância, do grupo OT apresentou mudança relevante de comportamento, exceção para uma evidente adaptação ao manejo diário como as demais do grupo.

Como discutido por Paranhos da Costa e Costa e Silva (2007) as interações sociais envolvem muitos fenômenos comportamentais dependentes do espaço e recursos disponíveis, e da densidade populacional. Neste estudo o espaço, tanto no pasto quanto no curral, não era restrito, e a alimentação suplementar estava disponível para todos os animais. Contudo as disputas foram comuns, especialmente em relação aos dois animais já citados anteriormente como dominantes, que mantiveram a disputa por liderança e eventualmente impediam as demais novilhas de se aproximar do cocho. Os demais mantiveram comportamento não diferenciado ou destacado ao longo do experimento fato justificado por Paranhos da Costa; Costa e Silva (2007) ao destacarem que após definição da hierarquia social em um grupo a ordem é relativamente estável e as posições respeitadas; disputas e desavenças são raras e as categorias são mantidas com simples ameaças.

O número de animais do grupo, adequado ao espaço físico contribuiu como sugerido por Syme; Syme (1979) para minimizar o estresse social pela violação do espaço individual, e como consequência não se observou distúrbios comportamentais entre os animais.

Paranhos da Costa e Cromberg (1997) ressaltaram a necessidade de cautela na formação dos lotes para evitar estresse social constante, o que pode resultar em estresse e aumento de agressividade (SCHAKE; RIGGS 1970, ARAVE et al., 1974, KONDO et al., 1984), além de dificultar a visualização dos problemas do sistema de criação (REINHARDT; REINHARDT, 1975). Neste contexto, os animais com comportamento agressivo e dominante foram inseridos nos grupos por sorteio, embora sendo um de cada grupo, e a manutenção dos animais do grupo OT e controle em um único manejo por um período de seis semanas foi suficiente para o estabelecimento da hierarquia e dominância, mas sem maiores distúrbios comportamentais típicos de estresse ou manejo inadequado em relação aos demais.

Alguns fatores adicionais devem ser levados em consideração. Foi constatado por Devries et al. (2003) que, em instalações com menos de 60 cm de cocho disponível por animal, menos de 70% das vacas conseguem acesso ao cocho simultaneamente. Tais resultados sugerem que alguns animais tendem a ter sua ingestão de alimentos limitada, o que pode ter ocorrido neste estudo, ainda que dois cochos estivessem disponíveis. Devries e Von Keyserlingk (2006) concluíram que um espaço maior no cocho faz com que a intensidade de interações agressivas entre os animais diminua e o tempo de alimentação aumente.

Bond et al. (2012) destacaram as diferenças nos sistemas de produção e a importância do acesso ao pasto como fator associado a um maior grau de bem-estar animal. Outros trabalhos demonstraram que as vacas aumentam a frequência de alimentação em ambientes que limitam os comportamentos competitivos (HUZZEY et al., 2005; DEVRIES et al., 2005). Contudo, neste estudo, todos os animais se alimentavam quando eram soltos no curral e as sobras de volumoso eram comuns.

4.2.2. Ganho de Peso

Na divisão (aleatória) dos animais o grupo tratado com OT apresentou peso médio inicial (326 kg) superior ao grupo controle (286 kg). Os pesos individuais variaram de 251 a 386 kg no grupo que recebeu a OT e de 252 a 382 kg no grupo controle (Tabela 09).

Tabela 09: Manejo e peso semanal (em kg) de novilhas mestiças Zebu x Red Angus, tratadas com ocitocina (20 UI – 2,0 mL), por via intramuscular e grupo controle (soro fisiológico – 2,0 mL, intramuscular).

Identificação	Grupo	Dia 1	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28	Dia 35
326	OT	251	247	258	266	273	276
324	OT	279	268	283	290	295	296
319	OT	287	290	300	310	309	316
303	OT	377	380	380	378	391	388
305	OT	378	376	393	392	399	407
456	OT	386	370	388	398	404	400
Média		326	322	334	339	345	347
Identificação	Grupo	Dia 1	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28	Dia 35
322	CT	252	247	260	263	270	269
306	CT	293	297	322	327	332	336
313	CT	268	272	282	281	293	288
315	CT	239	235	252	260	263	270
317	CT	278	281	293	299	307	308
338	CT	382	390	407	420	431	424
Média		285	287	303	308	316	316

O ganho de peso semanal revelou perda de peso de 4,5 kg em média nos animais tratados com OT na segunda semana e ganho de peso de 1,7 kg no grupo controle no mesmo período. Na semana seguinte houve ganho de peso em ambos os grupos, sendo este maior no grupo controle (Quadro 06). Posteriormente os ganhos de pesos foram menores até na última semana em que os animais somente foram manejados sem aplicação dos produtos, o grupo OT ganhou em média apenas 2,0 kg e o CT perdeu em média 0,2 kg.

Os ganhos de peso entre tratamentos ao longo das semanas de avaliação não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$), exceto entre as semanas 01 e 02, onde na semana 01 em que os animais estavam em adaptação ($p = 0,02108$), não estavam em tratamento e os grupos não estavam definidos.

Com exceção da primeira e última semana, correspondentes ao período de adaptação e acompanhamento, respectivamente as novilhas dos grupos controle e OT ganharam em média mais peso diário que novilhas Brangus mantidas em campo nativo, campo nativo com suplementação e campo nativo com menor densidade de animais (0,26; 0,38 e 0,68g, respectivamente) (MENEGAZ et al., 2008).

Ferreira et al. (2012) ao avaliarem o efeito de suplementos proteico-energéticos no desempenho de novilhos mestiços Red Angus x Nelore, manejados em pastagem no período das chuvas observaram ganhos de peso diário maiores em animais com suplemento proteico-energético contendo fubá (0,95 kg/d) e suplemento proteico-energético contendo farelo de trigo (0,78 kg/d), em relação aos do grupo controle (0,67 kg/d). No presente estudo, os ganhos de peso dos animais de ambos os grupos nas semanas 3 a 5 foram superiores aos obtidos por Ferreira et al. (2012) em novilhos com suplementação proteico-energético contendo farelo de trigo e grupo controle.

Deve-se destacar que o período em que o estudo foi conduzido (outubro/novembro) em condições normais corresponde ao início das chuvas na região, contudo, neste ano houve

um atraso no início das chuvas e o pasto estava ruim. Assim, justifica-se o menor ganho de peso no início do período experimental.

Pelos resultados obtidos em relação aos pesos, observa-se que não houve interferência da OT na dose de 20 UI por via intramuscular em aplicações diárias, por 15 dias sobre o peso (ganho ou perda de peso) dos animais. Os ganhos de peso foram maiores no grupo controle em todos os momentos, exceto ao final da avaliação, porém sem diferença significativa ($\geq 0,05$). É possível que a dose utilizada, ou o tempo não sejam suficientes para o efeito catabólico observado em ratos nos quais foi evidenciado efeito anti-obesidade da OT administrada no tecido subcutâneo (MAEJIMA et al., 2008; CAMERINO, 2009).

Quadro 06: Manejo e ganho semanal (em kg) de novilhas mestiças Zebu x Red Angus tratados com ocitocina (20 UI – 2,0 mL), por via intramuscular e grupo controle (soro fisiológico – 2,0 mL, intramuscular).

Semanas	Manejo	Ganho de Peso / Tratamento	
		OT (20 UI)	Soro fisiológico (2,0 mL)
01	Adaptação – Sem tratamento		
02	Tratamento	-4,5	1,7
03	Tratamento	11,8	15,7
04	Tratamento	5,3	5,7
05	Avaliação - Sem tratamento	6,2	7,7
06	Avaliação - Sem tratamento	2,0	-0,2

As recentes publicações sugerem que a OT é uma hormônio catabólico, anorético, e que pode exercer um ou ambos os efeitos, dependendo da via e/ou período de tratamento (TAKAYANAGI et al., 2008; CAMERINO, 2009; ZHANG; CAI, 2011; MORTON et al., 2011). Neste estudo utilizou-se dose de OT superior à utilizada para facilitar a ordenha de vacas mestiças sem a presença do bezerro. Assim pode-se sugerir que na dose utilizada o efeito anorexígeno não foi evidenciado. Questiona-se se em doses mais elevadas (suprafisiológicas e não usuais) ou em animais obesos tais efeitos seriam evidenciados.

Novos estudos devem ser conduzidos para obter uma melhor compreensão de como a OT atua no metabolismo de ruminantes, e se causa ou não redução do peso como evidenciado por Morton et al. (2011) ao examinaram a alimentação e as respostas neuronais à OT em ratos obesos.

4.2.3. Cortisol sérico

Como já discutido anteriormente, os valores séricos de cortisol em bovinos relacionados na literatura são divergentes e variam muito segundo a raça e condições em que os estudos foram conduzidos. Este fato foi discutido por Gatto (2007) que destacou a possibilidade de variação em função da metodologia utilizada e respostas individuais.

Nas condições do presente estudo o cortisol sérico de vacas mestiças Zebu x Red Angus variou de 0,5 µg/dL a 10,5 µg/dL. Portanto o menor valor obtido foi normal segundo Kaneko et al. (1997) e Radostitis et al. (2002) e o maior, bastante elevado em relação aos padrões de referência para a espécie. Individualmente todos os animais apresentaram em algum momento valores elevados em relação aos descritos por estes autores.

Segundo Farwell et al. (1983) a concentração basal de cortisol é relativamente constante para um mesmo indivíduo, podendo variar de 5 a 200 ng/mL (0,5 a 20 µg/dL) segundo as várias fases do ritmo circadiano (período de 24 horas), com níveis mais altos pela manhã. Os valores obtidos contrariam essa observação, visto que os valores individuais

variaram amplamente, em alguns casos em até 6,2 e 10,4 vezes de uma semana para a outra, mantidos os mesmos manejos e tratamentos (CT e OT, respectivamente).

Destaca-se que os dois animais com as maiores variações do cortisol sérico, embora com tratamentos (grupos) diferentes, manifestavam comportamento típico de dominância especialmente nos momentos de alimentação. Esse comportamento está de acordo com as descrições de Paranhos da Costa e Nascimento Jr (1986) quanto às interações agressivas entre indivíduos de um mesmo grupo na competição por recursos ambientais.

Como descrito por Paranhos da Costa e Cromberg (1997) a disputa por dominância é um fator condicionante de estresse e pode gerar aumento de agressividade com reflexos sobre o cortisol plasmático como indicado por Schake e Riggs (1970), Arave et al. (1974) e Kondo et al. (1984). Os valores médios, máximos, mínimos e o desvio padrão do cortisol sérico por tratamento estão representados no Quadro 07.

As médias do cortisol sérico em ambos os tratamentos em todos os momentos foram superiores aos descritos como de referência para a espécie (KANEKO et al., 1997; RADOSTITIS et al., 2002).

As médias mais elevadas foram sempre observadas no grupo controle comparativamente ao grupo tratado com OT, mas sem diferença significativa ($p \geq 0,05$) no período de adaptação (semanas 01 e 02) e após o tratamento (semanas 05 e 06). Contudo houve diferença significativa ($p=0,0280$) nos valores de cortisol entre os grupos após 14 dias de tratamento (semana 04). Os valores mais baixos foram observados no grupo tratado com OT (2,3 µg/dL) comparativamente ao grupo controle (4,7 µg/dL) e esta diferença sugere efeito modulador da OT na resposta neuroendócrina ao estresse como proposto por diferentes autores para humanos e outras espécies animais (WINDLE et al., 1997; NEUMANN et al., 2000; BALE et al., 2001; CARTER; ALTEMUS; CHROUSOS, 2001; WINDLE et al., 2004; PARKER et al., 2005; NEWMANN, 2008). Os autores relacionam ainda efeitos da OT sobre o comportamento social, não evidenciado neste estudo. Sugere-se que para avaliação do efeito da OT sobre o comportamento e atividade social seria necessário um estudo em condições mais controladas.

Quadro 07: Valores médios, máximos, mínimos e o desvio padrão do cortisol sérico em µg/dL em novilhas mestiças Zebu x Red Angus segundo os tratamentos.

	OT	Controle	Valor de p	Manejo
S1	2,7±1,53a	4,45±3,85a	0,2499	Adaptação – Sem tratamento
S2	1,62±0,63a	4,05±3,27a	0,0535	Tratamento
S3	1,88±1,18a	3,1±2,19a	0,0609	Tratamento
S4	2,32±1,56a	4,67±2,64b	0,0280	Tratamento
S5	1,82±0,97a	3,88±3,29a	0,0709	Avaliação - Sem tratamento
S6	2,37±1,06a	2,8±1,48a	0,0851	Avaliação - Sem tratamento

OT: Ocitocina

Números seguidos de letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa a 95%.

No presente estudo as vacas submetidas à contenção no tronco e aplicação intramuscular de OT apresentaram em média valores de cortisol de 1,6 µg/dL, 1,9 µg/dL e 2,3 µg/dL durante o tratamento, semanas 02, 03 e 04 respectivamente. Nos mesmos momentos no grupo que recebeu injeção de soro fisiológico as médias de cortisol foram 3,1 µg/dL, 4,1 µg/dL e 4,7 µg/dL, com diferença significativa ($p=0,0280$) na semana 04 (2,3 µg/dL- grupo OT; 4,7 µg/dL – grupo controle). Nas semanas 02 (primeiro dia da aplicação) e 03 (sete dias de tratamento) embora menores no grupo OT não houve diferença significativa nos valores de cortisol como demonstrado no Quadro 07.

Em mamíferos não humanos, receptores para a OT distribuídos em várias regiões do cérebro estão associados segundo Heinrichs; Dawans e Domes (2009) e Onaka; Takayanagi e Yoshida (2012) ao controle do estresse, da ansiedade e modulação do comportamento social. Os dados, portanto, são consistentes com os achados destes autores no que se refere à resposta ao estresse.

Embora tenha sido descrito um efeito residual de até nove dias no tratamento prolongado com OT em ratos (MAEJIMA et al., 2008) a redução do cortisol entre a quarta e a quinta semanas provavelmente não ocorreu pelo efeito da droga, visto que foi comum a ambos os grupos.

Hein e Allrich (1992) e Yoshida e Nakao (2005) relataram valores séricos médios de cortisol elevados em animais submetidos a colheita de sangue e injeção intravenosa. Aragon et al. (2001) e Vasquez e Herrera (2003) relataram média de cortisol de 3,29 µg/dL para zebuínos suplementados com cromo e submetidos ao estresse térmico. Maziero et al. (2012) obteve valores de cortisol entre 1,0 e 5,0 µg/dL em animais submetidos diariamente à contenção no tronco, palpação transretal e ultrassonografia do aparelho genital, assim como venopunção jugular por 21 dias. Também relataram níveis elevados de cortisol sérico em animais sob as mesmas condições, porém manejados uma vez por semana durante nove semanas. Os animais submetidos ao manejo diário apresentaram concentrações médias inferiores às observadas nos animais do manejo semanal. Como no presente estudo, os dados sugerem que os animais se acostumam ao manejo diário e apresentam níveis decrescentes desse hormônio, ainda que elevados por todo o período.

Neste estudo os valores médios tanto em animais tratados com OT, quanto os que receberam soro fisiológico foram mais elevados que as médias obtidas por Hein e Allrich (1992) e por Yoshida e Nakao (2005), e dentro dos limites relatados por Maziero et al. (2012). Os dados aqui obtidos são, portanto, condizentes com os de outros estudos em que se avaliou o efeito do manejo e manipulação dos animais.

Maziero et al. (2012) concluíram que os animais zebuínos, como os do presente estudo, são mais sensíveis e apresentam concentrações plasmáticas de cortisol superiores aos encontrados em animais de raças européias, quando submetidos a procedimentos rotineiros como vacinações e palpações retais. Este fato também foi evidenciado no presente estudo ao se comparar os valores de cortisol das vacas em lactação do experimento 1 com os de vacas zebuínas do experimento 2 e se justificam pelo comportamento característico das raças e manejo a que são submetidos.

Considerando que o cortisol plasmático é indicado para a análise dos efeitos de curto prazo de práticas de manejo sobre o bem-estar animal (BROOM; FRASER, 2007), e como medida fisiológica de resposta ao estresse (BOND et al. 2012), os valores obtidos neste estudo refletem as condições de manejo a que os animais foram submetidos, fato comprovado pela redução dos valores médios durante a adaptação.

Destaca-se que o sangue para determinação dos valores de cortisol foi obtido durante a contenção e logo após a aplicação da OT ou SF. Assim, fisiologicamente os valores obtidos refletem a condição dos animais, anteriormente à coleta, visto que o nível de cortisol aumenta cerca de 20 minutos após a exposição ao estresse agudo atingindo o máximo em duas horas (SILANIKOVE, 2000). Neste contexto, no experimento 1, com aplicação de OT ou SF durante e coleta de sangue ao final da ordenha, os níveis séricos do cortisol, considerando o tempo proposto por Silanikove (2000) para elevação do cortisol em resposta ao estressor, reflete a resposta fisiológica ao estresse da aplicação de OT e/ou SF durante a ordenha, podendo-se sugerir um efeito negativo desta prática.

Gatto (2007) em avaliação da reatividade ao manejo de novilhos Nelore e correlação com cortisol plasmático e desempenho, salientou que as discrepâncias de níveis séricos de cortisol encontrados na literatura, correlacionados ou não com aspectos comportamentais,

devem ser relacionados a diferenças individuais e, principalmente ao momento de coleta, a partir do início da resposta aos estressores. Em atenção ao que foi apresentado por Gatto (2007), a aplicação de OT ou SF ocorreu imediatamente antes da coleta de sangue, portanto antes da elevação fisiológica do cortisol em resposta ao estresse da aplicação. Desta forma destaca-se a influência do manejo e da raça sobre os valores obtidos, além do provável efeito da OT como evidenciado pelos valores do cortisol na semana 04.

4.2.4. Hemograma

De acordo Weiss e Perman (1992) as avaliações hematológicas nos bovinos são empregadas para analisar doenças em um animal ou para avaliar grupos de animais dentro de um rebanho e ainda para detectar doenças ocultas e direcionar as condutas clínicas. O hemograma contempla a determinação de diversos parâmetros, com a finalidade de avaliar quantitativa e qualitativamente os componentes celulares do sangue.

Com base nas considerações de Weiss e Perman (1992) e nos valores descritos como normais para o hemograma de ruminantes (SMITH, 2006) (Quadro 08) não houve nenhuma alteração hematológica relevante tanto no grupo CT quanto no grupo OT. Assim, para facilitar a discussão serão apresentados os dados referentes a início e final do tratamento (semanas 02 e 04, respectivamente) e período de acompanhamento (semana 06).

Na tabela 10 estão documentados os valores médios dos constituintes do eritrograma (hemácias, hematócrito e hemoglobina), bem como dos índices hematimétricos (Volume Corpuscular Médio – VCM e Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média – CHCM), indicados para identificar e classificar anemia e suas possibilidades diagnósticas (SMITH, 2006). Na tabela 11 serão indicados os valores médios da contagem de plaquetas, leucócitos e linfócitos.

Quadro 08: Parâmetros e valores de acordo com Smith (2006) para os constituintes do hemograma em ruminantes.

Parâmetros	Valores
Eritrócitos	5 – 10 ($10^6/\mu\text{L}$)
Plaquetas	100 – 800 ($10^3/\mu\text{L}$)
Hematócrito	24 – 46 %
Hemoglobina	8 – 15 (g/dL)
VCM (volume corpuscular médio)	40 – 60 (fl)
HCM (hemoglobina corpuscular média)	11 – 17 (pg)
CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média)	30 – 36 (g/dL)
Leucócitos	4 – 12 ($10^3/\mu\text{L}$)
Linfócitos	2,5 – 7,5 ($10^3/\mu\text{L}$)
Fibrinogênio	300 – 700 (mg/dL)

Tabela 10: Valores médios da contagem de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina e índices hematimétricos (VCM, CHCM) em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), via intramuscular. Seropédica, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.

Semana	Tratamento	Eritrócitos ($10^6/\mu\text{L}$)	Hematócrito (%)	Hemoglobina (g/dL)	VCM (fL)	CHCM (g/dL)
02	OT	7,95	32,4	10,88	40,88	33,6
	CT	8,02	34,46	11,64	43,06	33,76
04	OT	6,79	29,4	10,13	43,9	34,48
	CT	7,65	32,25	11,15	42,3	34,55
06	OT	6,74	29,54	10,18	44,6	34,42
	CT	7,35	31,9	11,05	43,5	34,62
Valor de p		0,193117	0,231963	0,36475	0,69697	0,145801

Tabela 11: Valores de leucócitos, Infócitos e plaquetas em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), via intramuscular. Seropédica, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.

Semana	Tratamento	Leucócitos ($10^3/\mu\text{L}$)	Linfócitos ($10^3/\mu\text{L}$)	Fibringênio (mg/dL)	Plaquetas ($10^3/\mu\text{L}$)
02	OT	10,6	7,12	480	268,4
	CT	10,2	7,18	620	299,2
04	OT	10,3	6,52	500	347
	CT	10,1	6,48	500	280
06	OT	9,3	6,02	300	297
	CT	10,55	6,96	400	348
Valor de p		0,973238	0,956196	0,06341	0,957176

O valor normal do hematócrito ou volume globular (VG) em bovinos varia entre 24 e 46% segundo COLES (1993) e SMITH (2006). Neste estudo os valores médios para o VG variaram entre 29,4 e 34,6% sendo ligeiramente mais baixos no grupo OT em todos os momentos, mas sem diferença significativa em relação ao CT.

O teor de hemoglobina está, assim como o valor do hematócrito, em estreita associação com o número de eritrócitos. Os níveis normais de hemoglobina ficam entre 8 e 15 g/dL (COLES, 1993; SMITH, 2006). Como foram normais as contagens de eritrócitos, o VG e concentração de hemoglobina, os índices eritrocitários ou hematimétricos que permitem estimar a medida dos eritrócitos do sangue e da concentração de hemoglobina nos eritrócitos, foram também normais em todos os momentos, indicando inexistência de anemia.

O leucograma raramente é patognomônico em determinada moléstia, entretanto as informações obtidas quando analisadas em conjunto com a história clínica e dados do exame físico, podem evidenciar processos inflamatórios, infecciosos, alérgicos, parasitários e

leucêmicos (COLES, 1993). Neste estudo a contagem global de leucócitos foi normal em todos os momentos, sendo mais baixa na semana 06 no grupo OT.

As plaquetas cuja principal função é a resposta hemostática à lesão vascular, variam em bovinos entre 100 e 800 mil unidades por μL de sangue. Portanto os valores de aproximadamente 270 a 340 mil neste estudo foram normais e não difeririam entre grupos.

O fibrinogênio, uma proteína sintetizada no fígado eleva-se no plasma pela ação de interleucinas (IL 1 e IL 6) e do fator de necrose tecidual liberado no processo inflamatório (SMITH, 2006). Assim, a concentração plasmática de fibrinogênio é útil na estimativa da resposta inflamatória de fase aguda. Neste estudo, o nível plasmático de fibrinogênio em média foi normal em ambos os grupos em todos os momentos.

A manutenção dos parâmetros hematológicos dentro dos padrões de referência indicam que não houve influência do tratamento e que o manejo sanitário e nutricional foi adequado para ambos os grupos em todos os momentos.

4.2.5. Bioquímica Sérica

A) Proteínas plasmáticas totais (PPT)

Na dosagem de proteínas plasmáticas totais (PPT) (Tabela 12) não houve diferença significativa entre as semanas tanto grupo CT ($p=0,46744$) quanto OT ($p=0,61036$) e entre os grupos de tratamento.

O menor valor (média) foi obtido na semana 5 em animais do grupo controle (7,0g/dL) e o valor mais alto no grupo OT na semana 6 (7,77g/dL). Os valores médios foram normais em ambos os grupos das semanas 01 a 05 e ligeiramente elevados na semana 06 segundo os valores referenciais estabelecidos por Duncan e Prasse (1982), Jain (1993), Kaneko et al. (1997), Radostitis et al. (2002) e González e Silva (2006).

Em todos os períodos os valores obtidos ficaram dentro dos limites obtidos por Haida et al. (1996), González et al. (1996) e Souza et al. (2004) ao avaliarem o perfil hematológico de vacas da raça holandesa em diferentes fases de lactação. Também foram próximos dos citados por Doornenbal; Tong e Murray (1988) e Barros Filho (1995), que foram 6,79g/dL e $6,76\pm 0,41$, respectivamente.

Souza (1997) ao estudar o proteinograma de vacas holandesas, gir e girolanda obteve valores de PPT, respectivamente de 7,57; 7,02 e 7,38 g/dL, semelhantes, portanto aos do presente estudo em que se avaliaram vacas mestiças dessas raças.

As proteínas totais são utilizadas para avaliação do *status* nutricional proteico, além de indicar a funcionalidade hepática de acordo com González e Silva (2006). Segundo Ramírez et al. (2001), a concentração das proteínas plasmáticas aumenta devido à resposta imune aos desafios infecciosos e a albumina como a proteína plasmática mais abundante, aumenta na mesma na mesma condição.

Nas semanas em que os valores médios para PPT foram mais altos não se observou nenhuma alteração clínica que justifique a elevação das PPT, contudo foi um período de altas temperaturas, em que pode ter ocorrido um grau leve de desidratação, onde haveria associado a um aumento PPT um aumento no volume globular, hemácias, hemoglobina e albumina sérica. Esses altos valores revelariam a hemoconcentração causada pela perda de líquidos corporais resultante dos mecanismos de dissipação de calor na tentativa de manutenção da temperatura dentro dos limites fisiológicos (SRIKANDAKUMAR; JOHNSON, 2004).

Tabela 12: Média, desvio padrão (DP) e valores máximos e mínimos das proteínas plasmáticas totais (PPT) em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), via intramuscular. Seropédica, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.

	Tratamento	Média	DP	Mínimo	Máximo
Semana 01	CT	7,4	0,45	6,8	8,0
	OT	7,14	0,55	6,7	8,0
Semana 02	CT	7,36	0,43	7,0	8,0
	OT	7,46	0,65	6,6	8,2
Semana 03	CT	7,42	0,48	6,8	8,0
	OT	7,6	0,56	7,1	8,4
Semana 04	CT	7,3	0,61	6,7	8,1
	OT	7,63	0,67	7,0	8,7
Semana 05	CT	7,0	0,54	6,4	8,0
	OT	7,43	0,56	6,8	8,0
Semana 06	CT	7,65	0,62	7,0	8,6
	OT	7,77	0,51	7,4	8,6

Semanas 01 e 02: Adaptação; Semanas 03 e 04: Tratamento; Semanas 05 e 06: acompanhamento.

Valores de referência: 6,97 ±0,53g/dL (COLES, 1993); 6-8g/dL (ROSEMBERGER, 1979); 6,7-7,5 g/dL (SMITH, 2006); 5,7-8,1g/dL (RADOSTITS, 2002)

B) Albumina

Os valores de albumina sérica foram mais elevados nas primeiras semanas, com diferença significativa em relação aos momentos para o grupo CT ($p=0,0105$) e OT ($p=0,01077$), quando os animais estavam em processo de adaptação ao manejo (S1) e o tratamento com OT fora apenas iniciado (S2), portanto os valores mais baixos nas semanas seguintes (Tabela 13) provavelmente não estão relacionados aos tratamentos.

Tabela 13: Média, desvio padrão (DP) e valores máximos e mínimos de albumina (mg/dL) em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), via intramuscular. Seropédica, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.

	Tratamento	Média	DP	Mínimo	Máximo
Semana 01	CT	2,78a	0,31	2,5	3,2
	OT	2,82a	0,27	2,4	3,1
Semana 02	CT	2,80a	0,28	2,5	3,2
	OT	2,96a	0,19	2,7	3,1
Semana 03	CT	2,12a	0,78	1,1	3
	OT	1,93b	0,99	0,8	3,1
Semana 04	CT	1,53c	0,71	0,6	2,3
	OT	1,57c	0,88	0,6	2,7
Semana 05	CT	2,13a	0,48	1,6	2,7
	OT	1,90b	0,76	0,9	2,8
Semana 06	CT	2,00a	0,67	0,7	2,6
	OT	1,90b	0,42	1,4	2,4

Semanas 01 e 02: Adaptação; Semanas 03 e 04: Tratamento; Semanas 05 e 06: acompanhamento sem tratamento. Letras (a, b e c) diferentes na coluna de médias indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos. Valores de referência: 3,4g/dL (COLES, 1993); 3-4g/dL (ROSEMBERGER, 1979); 2,1-3,6g/dL (RADOSTITS, 2002); 3-3,6g/dL (SMITH, 2006)

Na terceira semana (sete dias de tratamento) observou-se uma redução dos valores de albumina no grupo OT (1,9 g/dL), com diferença significativa ($p=0,0493$) em relação ao CT (2,1 g/dL) e abaixo do limite mínimo da normalidade (2,5g/dL).

Entre as semanas 03 e 04 os valores séricos diminuíram, novamente com diferença significativa entre os grupos ($p=0,0235$) na S3. Também na semana S5 em que os animais não estavam mais em tratamento os valores foram baixos, semelhantes aos da S3. Nas semanas S3, S4, S5 e S6 os valores médios encontrados para albumina estavam abaixo do limite de referência proposto por Duncan e Prasse (1982) que é de 2,5 a 3,5g/dL. Em todos os momentos e ambos os grupos os valores foram baixos segundo os limites de 3,0 a 3,6 g/dL sugeridos por Smith (2006).

De acordo com Coles (1993) concentrações reduzidas de albumina sérica estarão presentes na inanição e na desnutrição e em doenças gastrintestinais crônicas, nas quais há interferência na digestão e na absorção de proteínas. Também há síntese deficiente de albumina, nas hepatopatias crônicas. Assim, os achados referentes aos baixos valores de albumina devem ser reavaliados com a finalidade de identificar o fator causa.

De acordo com Meyer e Harvey (2004), a concentração da albumina no sangue varia entre as espécies, mas seu valor sérico ou plasmático pode variar entre 2,5g/dL e 4,5g/dL, valores estes superiores aos obtidos neste estudo nas semanas 03 a 06.

O valor da albumina sérica das novilhas mestiças Zebu x Red Angus neste estudo, foram também inferiores aos descritos por Fagliari et al. (1998) em bovinos machos da raça Nelore ($3,33 \pm 0,25$ g/dL), em pastagem, com suplementação mineral.

Os maiores valores obtidos para albumina foram próximos, porém abaixo dos encontrados por Gonçalves et al. (2001), que foi de $2,92 \pm 0,3$ para bovinos da raça Guzará também criados a pasto e por González e Rocha (1998) para vacas paridas em diferentes níveis de produção, que variou de 2,9 a 3,2 g/dL.

Gregory e Siqueira (1983) e González et al. (1993) haviam citado valores de albumina sérica maiores que 2,8mg dL para vacas de corte.

Peixoto et al. (2006) relataram valores de albumina de 2,36 mg/dL para vacas da raça Nelore e suas cruzas. Também em bovinos da raça Nelore Silva et al. (2008) relataram níveis mais elevados de albumina em animais confinados ($3,01\text{g/dL}\pm 0,43$), comparativamente aos animais criados a pasto ($2,82\text{g/dL}\pm 0,45$), justificando que os resultados foram influenciados pelo estado nutricional dos animais, como enfatizado por Jain (1993) e Garcés (2001), visto que os bovinos confinados recebem ração balanceada. Ainda Silva et al. (2008) encontraram valores de proteína sérica total mais alta em bovinos terminados a pasto ($6,10\pm 0,53$) que nos confinados ($5,96\pm 0,49$). Neste caso, os valores obtidos para animais a pasto sem suplementação foram próximos aos obtidos no presente estudo.

Embora com pastos ruins em função da seca prolongada, os animais foram suplementados no cocho, e o ganho de peso foi semelhante ao obtido por outros autores. Contudo nas semanas 01 e 02 em que se iniciou a suplementação e o pasto estava pior os valores foram mais elevados tanto para PPT quanto para albumina.

Payne e Payne (1987) e Wittwer (2000) destacaram que albumina, como a PPT, pode ser um indicador da adequação proteica e também energética na alimentação. Contudo enfatizaram que para se detectar mudanças significativas na concentração de albumina é necessário um período de pelo menos um mês, devido à baixa velocidade de síntese e de degradação desta proteína no ruminante.

Como os animais não apresentaram infestação relevante por ectoparasito, foram vermifugados antes do início do experimento e não apresentaram perda de peso ou sinais de desnutrição, não se identificou um fator causal para os valores de albumina obtidos. Pode-se, contudo sugerir diferenças nos valores em função da metodologia empregada, neste caso a utilização de kit comercial para análise espectrofotométrica.

C) Ureia

A ureia no sangue dos animais tratados do grupo controle variou de 15 a 36 mg/dL, com média semanal entre 23 e 30,3 mg/dL (Tabela 14). No grupo OT o menor foi 17 mg/dL e o maior valor individual de 39 mg/dL, com médias semanais entre 23,33 e 29,6 mg/dL.

Kaneko et al. (1997) e González e Silva (2006) definiram o valor de referência para ureia sérica de bovinos entre 17 a 45 mg/dL, os valores médios de ureia obtidos foram normais em ambos os grupos em todos os momentos.

Segundo Andreati (1998) o nível sanguíneo médio de ureia tido como normal para bovinos é de 5 a 20 mg/dL. Assim, em média os valores neste estudo foram elevados em todos os momentos e em ambos os grupos.

Peixoto et al. (2006) relataram para o nitrogênio ureico do sangue (NUS) valores de 14,98 mg/dL, concordando com González (2000) cujos valores indicados para bovinos de corte foram menores que 15 mg/dL, portanto ambos os autores referem-se a valores médios de ureia inferiores aos obtidos neste estudo.

Os valores obtidos foram semelhantes aos relatados por Gregory et al. (2004) que estabeleceram como referência para vacas da raça Jersey, no estado de São Paulo, teor sérico da uréia ($28,35 \pm 10,94$ mg/dL) e creatinina ($1,35 \pm 0,21$ mg/dL).

Kaneko et al. (1997) apontam para o papel da ureia na avaliação do perfil proteico, sendo que em ruminantes, a ureia no sangue, pode se elevar pela degradação de proteína no rúmen, e pela degradação de proteína nos tecidos. Oliveira Junior et al. (2004) indicaram a alta correlação da ureia sanguínea com a amônia ruminal e sua relevância para monitorar o perfil proteico da dieta.

Tabela 14: Média, desvio padrão (DP) e valores máximos e mínimos de ureia (mg/dL) em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), via intramuscular. Seropédica, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.

	Tratamento	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
Semana 01	CT	30	4,55	25	36
	OT	24,6	2,7	22	28
Semana 02	CT	27	3,29	22	31
	OT	29,2	5,63	23	36
Semana 03	CT	23	6,54	15	33
	OT	23,33	6,77	17	36
Semana 04	CT	23,83	6,46	18	32
	OT	26,17	8,16	17	39
Semana 05	CT	30,33	5,28	20	35
	OT	29,6	6,5	18	33
Semana 06	CT	29	3,69	24	32
	OT	28,33	5,85	19	37

Valores de referência: 6-27mg/dL (COLES, 1993); 10-40mg/dL (ROSEMBERGER, 1979); 6-27mg/dL (RADOSTITS, 2002); 20-30mg/dL (SMITH, 2006)

Para González e Scheffer (2003) a ureia é um indicador mais sensível e de curto prazo da ingestão de proteínas que a albumina. Contudo, Calixto Jr et al. (2010) salientaram que a idade e as condições individuais influenciam mais significativamente os valores séricos de ureia que a dieta. No contexto, Carrol et al. (1988), trabalhando com vacas alimentadas com baixa ou alta concentração de proteína bruta na dieta, encontraram valores maiores para NUS em vacas alimentadas com maior concentração de proteína (24,5 mg/dL) que vacas com restrição de proteína na dieta (10,0 mg dL).

Pelo exposto, os valores de ureia normais ou ligeiramente aumentados segundo a referência indicam aporte adequado de proteína, visto que não houve perda de peso sugestivo de catabolismo proteico, exceto na semana 01 para os animais do grupo OT, cuja média da ureia foi igual abaixo da de outros momentos em que não se observou perda de peso.

D) Glicose

A glicemia foi mais alta na primeira semana (antes do início do tratamento), no grupo OT (73,5 mg/L) e na semana 02 (dia 01 do tratamento) no grupo controle (77,7 mg/dL). No grupo CT foi mais estável, com diferença significativa em relação ao grupo OT na S2 ($p=0,007192$) e S4 ($p=0,04521$), mantendo-se os valores em ambos os grupos e em todos os momentos (Tabela 15) dentro dos limites de 40 a 80 mg/dL estabelecidos para bovinos adultos (KANEKO, 1997; DUNCAN; PRASSE, 1982; COLES, 1993; ROSEMBERGER, 1993). Os valores foram consistentes com a glicemia de 50 mg/dL apontada por Radostitis et al. (2007), como a concentração mínima de glicose necessária para manutenção dos processos biológicos em ruminantes. Também Fraser (1991) indicou valores normais para ruminantes abaixo da glicemia de outras espécies (40 a 60 mg/dL).

A concentração de glicose no sangue é importante na determinação da quantidade de energia disponível nas células individuais e varia segundo o tempo de ingestão, o estado nutricional e as reservas de carboidratos (SPORRI; STUNZI, 1977). Neste sentido, a glicemia foi mais baixa no grupo OT a partir da segunda semana e manteve-se abaixo dos valores do grupo CT durante as semanas 03 e 04 (Tabela 15).

Os valores mais elevados no início segundo Weekes (1991) podem ser relacionados ao estresse no momento da coleta, mesmo momento de níveis séricos de cortisol elevados com consequente aumento da mobilização de glicose para o sangue, coincidindo com o período de adaptação em que os animais se apresentavam mais agitados.

Valores normais de glicose sanguínea, porém próximos ao limite inferior da normalidade foram descritos por Pogliani e Birgel Junior (2007) (60,6-67,2 mg/dL) Rennó Neto (2004) (52,8- 58,8 mg/dL) e Souza (2005) (53,2- 58,8 mg/dL), consistentes portanto com os achados no presente estudo, em que a glicemia foi mais alta nos animais do grupo CT, com diferença relevante em relação ao grupo OT nas semanas 02 e 04 (Figura 11). Exceto Duncan; Prasse (1982), Coles (1993), Rosenberger (1993) e Kaneko et al. (1997) os demais autores estabeleceram os seus valores em trabalhos realizados no Brasil.

Tabela 15: Média, desvio padrão (DP) e valores máximos e mínimos da glicose em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), via intramuscular. Seropédica, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.

	Tratamento	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
Semana 01	CT	71,5a	7,5	63	81
	OT	73,5a	6,8	64	80
Semana 02	CT	77,7a	13,8	61	96
	OT	56,3b	8,6	45	67
Semana 03	CT	69a	18,8	43	97
	OT	65,8a	14	45	76
Semana 04	CT	67,7a	18,7	49	100
	OT	51,5b	10,8	36	64
Semana 05	CT	69,0a	8	57	78
	OT	65,2a	7	57	76
Semana 06	CT	68,2a	7,6	58	77
	OT	64,7a	16,5	42	91

Letras (a e b) diferentes na coluna de médias indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos.

Valores de referência: 45-70mg/dL (COLES, 1993); 60-80mg/dL (ROSEMBERGER, 1979); 45-75mg/dL (Radostits, 2002); 45-75mg/dL (Smith, 2006)

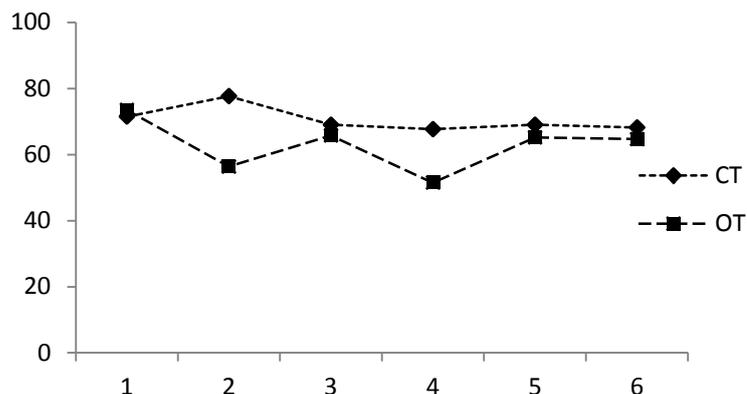


Figura 11: Valores médios de glicose sanguínea em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), intramuscular, outubro/novembro 2012.

E) Colesterol

Colesterol e triglicerídeos séricos são bons indicadores metabólicos nutricionais em bovinos (RODRÍGUEZ et al., 1985; REIST et al., 2002). A lipemia aumenta quando o alimento é rico em lipídios e diminui nos estados de desnutrição (KANEKO et al., 1997). Níveis elevados de colesterol no sangue ocorrem pela mobilização catabólica de lipídios devido à demanda maior de energia do que oferecida na dieta (GONZÁLEZ, 2000) e na obstrução biliar extra-hepática (SANTOS et al., 2007).

Na média o colesterol total variou de 39 a 189 mg/dL no grupo CT e de 11 a 189 mg/gL no grupo OT (Tabela 16). Entre os grupos os valores foram semelhantes nas semanas 01 e 2 ($p \geq 0,05$). Houve uma redução na semana 03 e elevação significativa ($p \leq 0,01$) na semana 04, e embora decrescentes os níveis mantiveram-se elevados nas semanas seguintes.

Tabela 16: Média, desvio padrão (DP) e valores máximos e mínimos do colesterol sérico em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), via intramuscular. Seropédica, Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2012.

	Tratamento	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
Semana 01	CT	124,5a	8,35	116	135
	OT	106,6a	23,7	71	127
Semana 02	CT	123,7a	9,89	112	138
	OT	101a	51,8	11	133
Semana 03	CT	79b	30,4	44	107
	OT	65,17b	43,5	28	134
Semana 04	CT	136,2ac	40,3	91	185
	OT	133,8ac	51,7	83	189
Semana 05	CT	102,8a	31,4	59	138
	OT	88,8a	37,9	48	146
Semana 06	CT	100,5a	39	39	138
	OT	89,33a	28,5	60	128

Valores de referência: 50-150mg/dL (ROSEMBERGER, 1979); 65-220mg/dL (RADOSTITS, 2002); 80-120mg/dL (SMITH, 2006)

Rennó Neto (2004) e Pogliani e Birgel Junior (2007) encontraram valores de colesterol entre 116 e 149 mg/dL, semelhantes aos referidos por Souza (2005) e Arave et al. (1974) em vacas (172,8 mg/dL) e novilhas (121,4 mg/dL). Borges et al. (2001) relataram valores médios de 85,9 mg/dL em novilhas mestiças doadoras de embriões tratadas com somatotropina bovina recombinante.

Os valores médios observados na semana 03 foram mais baixos e inferiores aos relacionados por diferentes autores. Nas semanas seguintes os níveis foram maiores (Figura 12) e consistentes com os relacionados para bovinos em diferentes condições. Em nenhum momento houve diferença significativa entre os tratamentos.

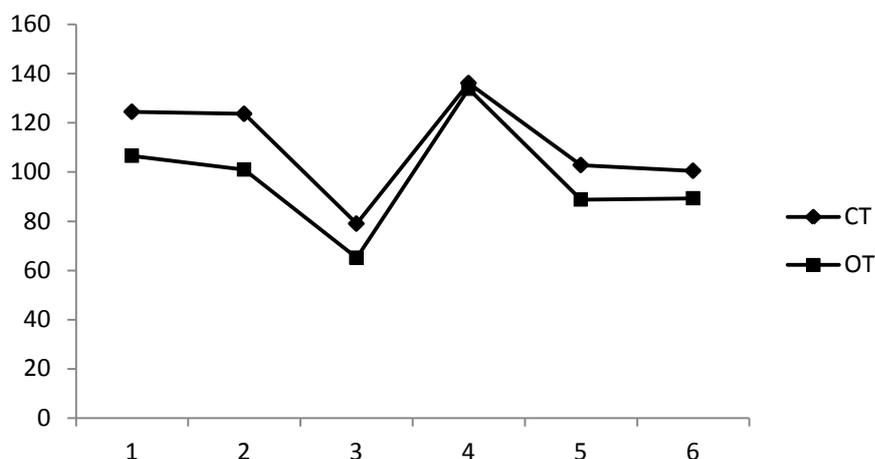


Figura 12: Valores médios de colesterol sanguíneo em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), intramuscular, outubro/novembro 2012.

F) Triglicérides

Para triglicerídeos os valores séricos foram equivalentes entre os tratamentos e sem diferenças relevantes entre as semanas (Tabela 17).

Embora com uma ampla variação (17 a 152 mg/dL), os níveis obtidos foram normais de acordo com os valores referenciais do lipidograma de bovinos da raça holandesa, estabelecidos por Pogliani e Birgel Junior (2007). Rennó Neto (2004) e Souza (2005) relataram níveis mais baixos de triglicerídeos, em semelhança aos apresentados neste estudo.

Pogliani (2006) avaliou a influência da idade sobre os componentes do lipidograma de bovinos da raça Holandesa e identificou valores mais elevados de triglicerídeos em vacas com até 48 meses (16,3 a 34,8 mg/dL) que adultas acima de 48 meses (14 a 24 mg/dL) e comportamento inverso nos níveis de colesterol (86,4 a 1,5 mg/dL de 12 a 24 meses; 116 a 147,9 mg/dL para vacas acima de 24 meses).

Sobre a influência da gestação e do puerpério no lipidograma de bovinos da raça Holandesa os valores encontrados por Pogliani et al. (2010) para triglicerídeos foram significativamente menores em vacas com até 30 dias de puerpério ($12,35 \pm 5,70$ mg/dl), que em vacas não prenhes ($29,60 \pm 16,32$ mg/dl) e em gestação (entre $29,44 \pm 9,55$ mg/dl e $38,46 \pm 21,64$ mg/dl).

Tabela 17: Média dos valores séricos de triglicerídeos em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), via intramuscular.

	Tratamento	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
Semana 1	CT	26,25	7,93	18	34
	OT	26	6,89	18	32
Semana 2	CT	36,83	11,2	23	53
	OT	44,4	9,21	32	56
Semana 3	CT	19,5	8,92	10	34
	OT	17	9,82	5	31
Semana 4	CT	152	10,8	139	164
	OT	150,5	11,5	140	167
Semana 5	CT	114,5	14,7	96	140
	OT	96,6	17,8	69	117
Semana 6	CT	119,8	11,7	112	142
	OT	112,8	10,1	100	125

Valores de referência: 15-45mg/dL (ROSEMBERGER, 1979); 0-14mg/dL (Radostits, 2002)

No presente estudo os teores de triglicerídeos nas semanas 1 a 3 foram superiores aos obtidos por esses autores em vacas não prenhes e em gestação, enquanto que nas semanas seguintes os valores foram muito superiores aos de todas as categorias estudadas por Pogiani (2006) e Pogiani et al. (2010).

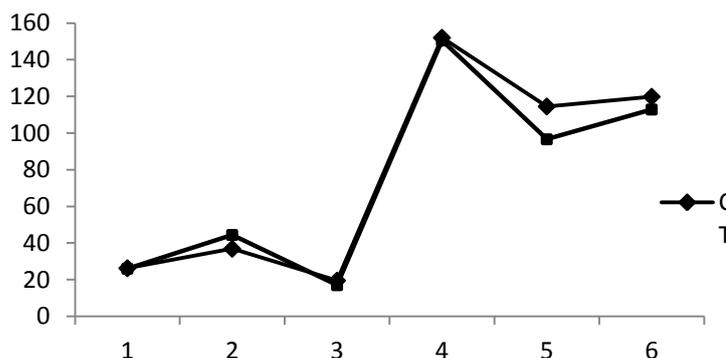


Figura 13: Valores médios de triglicerídeos em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 02 a 04), intramuscular, outubro/novembro 2012.

G) Aspartato aminotransferase (AST)

A atividade sérica da enzima aspartato aminotransferase (AST) foi mais elevada na segunda semana (em ambos os grupos), com uma redução de 83 mg/dL para 54,3 entre as semanas 02 e 03 no grupo OT, mas sem diferença significativa em relação ao CT no mesmo período (Tabela 18).

A tendência de decréscimo foi mantida da terceira para a quarta semana, englobando o grupo CT. Para as semanas seguintes (S5 e S6) a atividade da enzima AST no soro se

elevou em ambos os grupos, novamente sem diferença significativa, de forma que os valores iniciais (S1) e finais (S6) foram quase semelhantes entre os grupos como evidenciado através da figura 14. Estes resultados mostraram-se bem acima dos encontrados por Coppo et al. (2000) em bovinos adultos com diferentes graus de sangue Zebu x Europeu (30 UI/L).

Gregory et al. (1999) ao determinarem os valores de referência da atividade enzimática em bovinos da raça Jersey relataram que os valores obtidos para a AST foram iguais a $33,91 \pm 10,99$ UI/L. A avaliação dos resultados demonstrou que as transaminases sofreram influência dos fatores etários, pois os teores séricos da AST aumentaram significativamente com o evoluir da idade, sendo o valor mínimo observado nas bezerras com até 3 meses de idade ($26,39 \pm 22,17$ UI/L) e valor máximo em vacas com idade entre 48 e 72 meses de idade ($38,60 \pm 11,24$ UI/L). Portanto os valores referenciais citados por estes autores para a raça Jersey foram menores que os do presente estudo em que se avaliou a atividade da enzima AST em novilhas de corte.

Souza et al. (2004) comprovaram como outros autores, a influência dos fatores raciais nos resultados da AST, sendo os valores nos bovinos da raça Jersey ($49,27 \pm 17,87$ UI/L) maiores do que os da raça Holandesa ($34,76 \pm 10,61$ UI/L).

Segundo Wittwer (2000) em condições de funcionamento normal do fígado, a atividade sérica da enzima aspartato aminotransferase (AST) deve ser menor que 120 UI/L. O significativo aumento da AST sérica sugere lesão hepática grave e difusa (MEYER et al., 1992), assim os valores médios encontrados em ambos os grupos, em todos os momentos podem ser considerados normais, sugerindo que o tratamento com OT não influenciou a função hepática.

Tabela 18: Média, desvio padrão e valores mínimos e máximos da atividade sérica da enzima aspartato aminotransferase (AST) em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), via intramuscular.

	Tratamento	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
Semana 1	CT	73,5	5,9	68	80
	OT	72,4	13,9	49	86
Semana 2	CT	86,5	16,7	72	118
	OT	80,2	6,06	71	85
Semana 3	CT	63,8	26,3	39	108
	OT	54,3	30,1	24	96
Semana 4	CT	55,2	28,3	22	91
	OT	49,5	28,4	18	81
Semana 5	CT	66,2	10,4	55	81
	OT	58,2	22,7	31	84
Semana 6	CT	67,8	22,6	36	94
	OT	66,7	17,3	42	86

Valores de referência: 20-34UI/L (COLES, 1993); 10-50mU/mL (ROSEMBERGER, 1979); 78-132U/L (Radostits, 2002); 27-107UI/L (Smith, 2006)

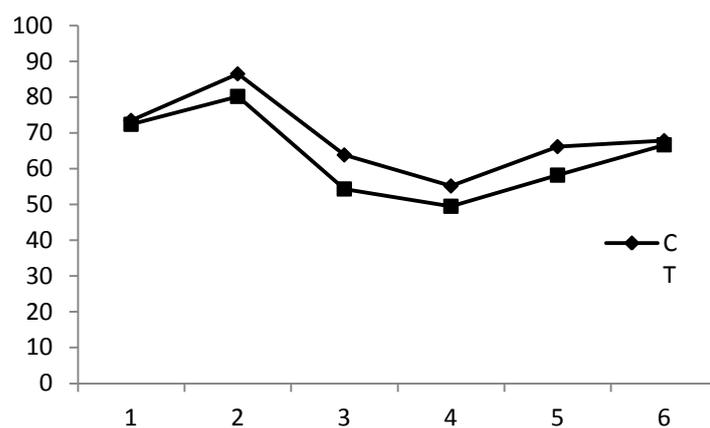


Figura 14: Valores médios da enzima aspartato aminotransferase (AST) em novilhas mestiças Zebu x Red Angus, com aplicações diárias de 20 UI de ocitocina (OT) ou solução fisiológica 0,85% (CT - Controle), por 15 dias (semanas 2 a 4), intramuscular, outubro/novembro 2012.

5. CONCLUSÕES

Geral

Os dois tipos de manejo foram capazes de induzir ao estresse, com uma maior resposta nos animais zebuínos.

Nas doses utilizadas não houve interferência da OT sobre os parâmetros bioquímicos indicadores do metabolismo energético.

Experimento 1

O uso de OT em duas aplicações durante a ordenha mecânica de vacas mestiças sem a presença do bezerro não se justifica. Aplicação de OT no meio da ordenha é equivalente ao seu uso no início e no meio da ordenha.

A produção de leite é influenciada pelo uso de OT, com possibilidade de que os animais sejam dependentes do uso externo da mesma.

A aplicação de OT por via intravenosa durante a ordenha é um fator de estresse aos animais embora a resposta ao estresse não varie com a aplicação de OT em uma ou duas aplicações durante a ordenha.

Experimento 2

A aplicação de OT na dose de 20 UI intramuscular, diariamente por 15 dias em novilhas não interfere sobre o ganho de peso semanal.

A OT pode estar relacionada a uma resposta menos intensa ao estresse.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABENI, F.; MAIANTI, M.G.; CALAMARI, L.; CAPPÀ, V.; STEFANINI, L. Effects of heat stress on lactating dairy cows and feeding strategy to reduce its impact on milk yield and quality. Università Cattolica del Sacro Cuore Milano, **Annali della Facoltà di Agraria**, v.33, p.151-170. 1993.

AKERS, R.M. Lactation and the mammary gland. **Iowa State Press**, p.54-56, 2002.

AKERS, R.M.; LEFCOURT, A.M. Milking and suckling induced secretion of oxytocin and prolactin in parturient dairy cows. **Hormones and Behavior**, v.16, p.87-93, 1982.

ALBRIGHT, J.L. Nutrition and feeding calves: Feeding behavior of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.2, p.485-498, 1993.

ALROE, H.F.; VAARST, M.; KRISTENSEN, E.S. Does organic farming face distinctive livestock welfare issues? A conceptual analysis. **Journal of Agricultural & Environmental Ethics**, v.14, p.275-299, 2001.

AMOS, H.E.; KISER, T.; LOEWENSTEIN, M. Influence of milking frequency on productive and reproductive efficiencies of dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.68, p.732-739, 1985.

ANDREOTTI, F. L. *Mun-milk urea nitrogen*. Maringá: Revisão Bibliográfica-PPZ-UEM, 1998, 10 p.

ANDRIOLO, A. Amamentação coletiva em búfalos (*Bubalus bubalis*): ontogenia e diferenças individuais. Ribeirão Preto, 145 p., **Dissertação (Mestrado)** Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo. 1995.

ARAGÓN, V.E.F.; GRAÇA, D.S.; NORTE, A.L.; SANTIAGO, G.S.; PAULA, O.J. Suplementação com cromo e desempenho reprodutivo de vacas zebu primíparas mantidas a pasto. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.1, n.5, p.624-628, 2001.

ARAVE, C.W.; ALBRIGHT, J.L.; SINCLAIR, C.L. Behavior, milking yield, and leukocytes of dairy cows in reduced space and isolation. **Journal of Dairy Science**, v.57, p.1497-1501, 1974.

ARGENZIO, R.A. Motilidade gastrointestinal. Em: DUKES: **Fisiologia dos animais domésticos**. Ed. Guanabara Koogan S.A.; 12ª edição. Rio de Janeiro, p.362-373, 2006.

ARLETTI, R.; BENELLI, A.; BERTOLINI, A. Influence of oxytocin on feeding behavior in the rat. **Peptides**, v.10, p.89-93, 1989.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/019697818990082X>

ARMSTRONG, D.V. Heat stress interaction with shade and cooling. **Journal of Dairy Science**. v.77, p.2044-2050, 1994.

ARNOLD, G.W.; DUDZINSKI, M.L. Ethology of free-ranging domestic animals. **New York: Elsevier**, 197p, 1978.

AYADI, M.; CAJA G.; SUCH, X.; KNIGHT, C.H. Use of ultrasonography to estimate cistern size and milk storage at different milking intervals in the udder of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.70, p.1-7, 2003.

BALE, T.L.; DAVIS, A.M.; AUGER, A.P.; DORSA, D.M.; MCCARTHY, M.M. Region specific oxytocin receptor expression: importance in regulation of anxiety and sex behavior. **Journal of Neuroscience**, v.21, p. 2546–2552, 2001.

BALLOU, L.U.; BLECK, J.L.; BLECK, G.T.; BREMEL, R.D. The effects of daily oxytocin injections before and after milking on milk production, milk plasmin, and milk composition. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.6, p.1544-1549, 1993. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030293774871>

BARFIELD, C.H.; TANG-MARTINEZ, Z.; TRAINER, J.M. Domestic calves (*Bos taurus*) recognize their own mothers by auditory cues. **Ethology**, v. 97, p. 257–264, 1994.

BARNES, M.A.; PEARSON, R.E.; LUKES-WILSON, A.J. Influence of milking frequency and selection for milk yield on productive efficiency of Holstein cows. **Journal Dairy Science**, v.73, p.1603-1611, 1990.

BAR-PELED, U.; MALTZ, E.; BRUCKENTAL, I.; FOLMAN, Y.; KALI, Y.; GACITUA, H.; LEHRER, A.R. Relationship between frequent milking or suckling in early lactation and milk production of high producing dairy cows **Journal of Dairy Science**, v.78, p.2726-2736, 1995.

BARROS FILHO, I.R. Contribuição ao estudo da bioquímica clínica em zebuínos da raça Nelore criados no estado de São Paulo: Influência dos fatores etários e do tipo racial. São Paulo, 132p. **Dissertação (Mestrado)** Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 1995.

BAUMAN, D.E.; EVERETT, R.W.; WEILAND, W.H.; COLLIER, R.J. Production responses to bovine somatotropin in northeast dairy herds. **Journal Dairy Science**, v.82, p.2564-2573, 1999.

BECKER, B.; LOBATO, J. Effect of gentle handling on the reactivity of zebu crossed calves to humans. **Applied Animal Behaviour Science**, v.53, n.3, p.219-224, 1997.

BEEDE, D.K.; LYONS, T.P.; JACQUES, K.A. Water quality and nutrition for dairy cattle. In: **Altech's Annual Symposium**, 10, *Proceedings...*, s.n.t.,. p.183-198, 1994.

BEZERRA, L.R. Desempenho e comportamento metabólico de cordeiros da raça Santa Inês alimentados com diferentes concentrações de *Spirulina platensis* diluída em leite de vaca. 2006. 41f. **Dissertação (Mestrado em Sistemas Agrosilvopastoris no semi-árido) – Centro de Saúde e Tecnologia Rural**, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande - PB.

BINELLI, M.; THATCHER, W.W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P.S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v.56, n.9, p.1451-1463, 2001. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X0100646X>

- BOISSY, A.; BOUISSOU, M.F. Effects of early handling on heifers' subsequent reactivity to humans and to unfamiliar situations. **Applied Animal Behavior Science**, v.20, p.259- 273, 1988.
- BOISSY, A.; VEISSIER, I.; ROUSSEL, S. Emotional reactivity affected by chronic stress: an experimental approach in calves subjected to environmental instability. **Animal Welfare**, v.10, p.175-185, 2001.
- BOIVIN, X.; BOISSY, A.; NOWAK, R.; HENRY, C.; TOURNADRE, H.; LE NEINDRE, P. Maternal presence limits the effects of early bottle feeding and petting on lambs' socialisation to the stockperson. **Applied Animal Behavior Science**, v.77, p.311-328, 2002.
- BOIVIN, X.; NEINDRE, P. LE; CHUPIN, J.M. Establishment of cattle-human relationships. **Applied Animal Behavior Science**, v.32, p.325-335, 1992.
- BOND, G.B.; ALMEIDA, R.; OSTRENSKY, A.; MOLENTO, C.F.S. Métodos de diagnóstico e pontos críticos de bem-estar de bovinos leiteiro. **Ciência Rural**, v.42, n.7, p.1286-1293, 2012. <http://www.scielo.br/pdf/cr/v42n7/a19012cr3562.pdf>
- BORGES, A.M.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M.; CARVALHO, G.R.; ROCHA JÚNIOR, V.R. Concentração plasmática de colesterol total e lipoproteína de alta densidade em novilhas mestiças doadoras de embriões tratadas com somatotropina bovina recombinante. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.5, p.605-610, 2001. <http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v53n5/a16v53n5.pdf>
- BOTELHO , G.G.; OLIVEIRA, A.R.; PACHECO, R.G. Uréia, creatinina e ácido úrico em bovinos da raça Canchim. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.6, n.2, p.31-32, 1984.
- BREAZILE, J.E. The physiology of stress and its relationship to mechanisms of disease and therapeutics. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.4, p.441-480, 1988.
- BREUER, K., HEMSWORTH, P.H., BARNETT, J.L., MATTHEWS, L.R., COLEMAN, G.J. Behavioral response to humans and the productivity of commercial dairy cows. **Applied Animal Behavior Science**, v. 66, p. 273-288, 2000.
- BREUER, K.; HEMSWORTH, P.H.; COLEMAN, G.J. The effect of positive or negative handling on the behavioral and physiological responses of nonlactating heifers. **Applied Animal Behavior Science**, v.84, n.1, p.3-22, 2003.
- BRITO, M. A. Variação dos perfis metabólico, hematológico e lácteo em ovinos leiteiros na serra gaúcha. 2004. 60p. **Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)**. Departamento de Medicina Veterinária. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2004.
- BROOM, D. M.; LEAVER, J. D. Effects of group-rearing or partial isolation on later social behavior of calves. **Animal Behavior**, v.26, p.1255-1263, 1978.
- BROOM, D.M. Indicators of poor welfare. **British Veterinary Journal**, v.142, p.524-526, 1986.

BROOM, D.M. Animal welfare: concepts and measurements. **Journal of Animal Science**, v.69, p.4167-4175, 1991.

BROOM, D.M.; FRASER, A.F. **Domestic animal behavior and welfare**. Cambridge: CABI, 438p, 2007.

BROOM, D.M.; JOHNSON, K.G. Stress and Animal Welfare. London: **Chapman and Hall**, 1993.

BROOM, D.M.; MOLENTO, C.F.M. Bem-estar animal: conceito e questões relacionadas – revisão. **Archives of Veterinary Science**, v.9, n.2, p.1-11, 2004.

BRUCKMAEIR, R.M. Normal and disturbed milk ejection in dairy cow. **Domestic Animal Endocrinology**, v.29, p.268-27, 2005. Disponível em: <http://pollux.wzw.tum.de/physio/fileadmin/1.Seite/Sonstige/DAE-05-268.pdf>

BRUCKMAIER, R.M. Milk ejection during machine milking in dairy cows. **Livestock Production Science**, v.70, p.121-124, 2001.

BRUCKMAIER, R.M.; BLUM, J.L. Oxytocin release and milk removal in ruminants **Journal of Dairy Science**, v.81, p.939-949, 1998.

BRUCKMAIER, R.M.; BLUM, J.L. Simultaneous recording of oxytocin release, milk ejection and milk flow during milking of dairy cows with and without prestimulation. **Journal of Dairy Research**, v.63, p.201-208, 1996.

BRUCKMAIER, R.M.; RITTER, C.; SCHAMS, D.; BLUM, J.W. Machine milking of dairy goats during lactation: udder anatomy, milking characteristics, and blood concentrations of oxytocin and prolactin. **Journal of Dairy Research**, v.61, p.457-466, 1994.

CABARET, J.; BOUILHOL, M.; MAGE, C. Managing helminths of ruminants in organic farming. **Veterinary Research**, v.33, p.625-640, 2002.

CAJA, G.; SUCH, X.; RUBERTE, J.; CARRETERO, A.; NAVARRO, M. The use of ultrasonography in the study of mammary gland cisterns during lactation in sheep. In: Proceedings of the Sixth International Symposium on the Milking of Small Ruminants: Milking and milk production of dairy sheep and goats. **Anais...** p.91-93, 1999.

CALIXTO JUNIOR, M.; JOBIM, C.C.; SANTOS, G.T.; BUMBIERIS JÚNIOR, V.H. Constituintes sanguíneos de vacas da raça holandesa alimentadas com silagens de milho ou de capim-elefante. **Semina: Ciências Agrárias**, v.31, n.2, p.429-438, 2010. <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/5346/4857>

CAMERINO, C. Low sympathetic tone and obese phenotype in oxytocin-deficient mice. **Obesity**, v.17, p.980-984, 2009. Disponível em: <http://linkedlifedata.com/resource/pubmed/id/19247273>

CAMPOS, R. G., CUBILLOS, C.; RODAS, A. G. Indicadores metabólicos en razas lecheras especializadas en condiciones tropicales en Colombia. **Acta Agronomica**, v.56, N. 2, Apr./June 2007.

CAMPOS, R.; GONZÁLEZ, F.; LACERDA, L.; COLDEBELLA, A. Perfil metabólico obtenido de *pool* de sueros o de muestras individuales. **Archive Zootecnia**. v. 54, p. 113-116, 2005.

CAMPOS, R; LACERDA, L.A.; TERRA, S.R.; GONZÁLEZ, F.H.D.. Parâmetros hematológicos e níveis de cortisol plasmático em vacas leiteiras de alta produção no Sul do Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v.45, n.5, p.354-361, 2008.

CARROL, D.J.; BARTON, B.A.; ANDERSON, G.W.; SMITH, R.D. Influence of protein intake and feeding strategy on reproductive performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.3470-3481, 1988.

CARRUTHERS, V.R.; DAVIS, S.R.; BRYANT, A.M.; HENDERSON, H.V.; MORRIS, C.A.; COPEMAN, P.A. Response of jersey and friesian cows to once a day milking and prediction of response based on udder characteristics and milk composition. **Journal Dairy Research**, v.60, p.1–11, 1993.

CARTER, C.S. Neuroendocrine perspectives on social attachment and love. **Psychoneuroendocrinology**, v.23, n.8, p.799-818, 1998.

CARTER, C.S.; ALTEMUS, M. Integrative functions of lactational hormones in social behavior and stress management. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.807, p.164–174, 1997.

CARTER, C.S.; ALTEMUS, M.; CHROUSOS, G.P. Neuroendocrine and emotional changes in the post-partum period. **Progress in Brain Research**, v.133, p.241–249, 2001.

CARTER, C.S.; GRIPPO, A.J.; POURNAJAFI-NAZARLOO, H.; RUSCIO, M.G.; PORGES, S.W. Oxytocin vasopressin and sociality, **Progress in Brain Research**, v.170, 331–336, 2008.

CARVALHO, G.; CARNEIRO, A.V. Principais Indicadores Leites e Derivados. – Ano 2, n. 7 (jan/2009) - Juiz de Fora: **Embrapa Gado de Leite**, 2009. Disponível em: http://www.cileite.com.br/publicacoes/arquivos/2009_01_Indicadores_leite.pdf

CEBALLOS, A.; GÓMEZ, P.M.; VÉLEZ, M.I.; VILLA, N.A.; LÓPEZ, LF. Variación de los indicadores bioquímicos del balance de energía según el estado productivo en bovinos lecheros de Manizales, Colombia. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuárias**, v.15, p.1-8, 2002.

CHARD T, GIBBENS GL - Spurt release of oxytocin during surgical induction of labor in women. **American Journal Obstetrics Gynecology**;147: 678-680, 1983.

CHARPIGNY, G.; REINAUD, P.; TAMBY, J.P.; CREMINON, C.; GUILLOMOT, M. Cyclooxygenase-2 unlike cyclooxygenase-1 is highly expressed in ovine embryos during the implantation period. **Biology of Reproduction**, v.57, p.1032-1040, 1997.

CHRISTENSEN, R.A.; CAMERON, M.R.; CLARK, J.H.; DRACKLEY, J.K.; LYNCH, J.M.; BARBANO, D.M. Effects of amount of protein and ruminally protected amino acids in

the diet of dairy cows fed supplemental fat. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.1618-1629, 1994.

CHURCH, D.C. **The ruminant animal. Digestive physiology and nutrition**. A Reston Book. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey. 1988.

COELHO, S. G. Glândula mamária e lactação. In: SILVA, J. C. P. M.; OLIVEIRA, A. S. VELOSO, C. M. **Manejo e administração na bovinocultura leiteira**. Viçosa-MG, 482p. 2009.

COLES, E. H. **Patologia clínica veterinária**. 3. ed. São Paulo: Manole, 566 p. 1993.

CONTRERAS, P. Indicadores do metabolismo protéico utilizados nos perfís metabólicos de rebanhos. In: GONZÁLEZ, F.H.D., BARCELLOS, J.O., OSPINA, H., RIBEIRO, L.A.O. (Eds.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.

COPPO, J.A; COPPO, N.B; SLANAC, A.L; REVIDATTI, M.A; CAPELLARI, A. Influencia del desarrollo, sexo y tipo de destete sobre algunas actividades enzimáticas em plasma de terneros cruza cebú. In: COMUNICACIONES CIENTÍFICAS Y TECNOLÓGICAS, 2000, Corrientes. [Anais...] Corrientes: Universidad Nacional del Nordeste, 2000. 4p. Disponível em: http://www.produccionovina.com.ar/informacion_tecnica/destete/63-enzimas.pdf

COSTA, S.G. Perfil lipídico de vacas Holandesas, variedade HPB, em diferentes fases da gestação,. 57f. **Dissertação (Mestrado)** - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1991.

COSTA E SILVA, E.V.; RUEDA, P.M.; RANGEL, J.M.R.; ZÚCCARI, C.E.S.N. Bem-Estar, Ambiência e Saúde Animal. **Ciência Animal Brasileira**, 2009, www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/7925/5785.

CRISTHIANSON, W.T. Stillbirths, mummies, abortions and early embryonic death. **The Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice**, v.8, p. 623-639, 1992.

CROSS, B.A. Comparative physiology of milk removal. In: Comparative Aspects of Lactation. Edited by Malcolm Peaker. Symp., **Zoological Society of London**, v.41, p.193-210, 1977.

CZAKO, J. Control of large-scale dairy units ethological view. In: **World Congress of Animal Production**, 5th. Proceedings ... [s.l.]: [s.n.], v.1, p.192-196, 1983.

DACOME, O.A.; GARCIA, R.F. Efeito modulador da OT sobre o prazer. **Revista Saúde e Pesquisa**, v.1, n.2, p.193-200. 2008. www.cesumar.br/pesquisa/periodicos/index.../608

DAVIS, S.R.; FARR, V.C.; STELWAGEN, K. Regulation of yield loss and milk composition during once-daily milking: a review. **Livestock Production Science**, v. 59, Issue 1, p. 77-94, 1999.

DEL-CLARO, K. **Comportamento animal – uma introdução à ecologia comportamental**. Distribuidora / Editora - Livraria Conceito - Jundiaí – SP, 132p, 2004.

de Passillé; A.M.; Rushen, J. and Marnet, P.G. Effects of nursing a calf on milk ejection and milk yield during milking. **Journal Dairy Science** 80, Suppl. 1, p. 203, 1997.

DEPETERS, E.J.; SMITH N.E.; ACEDO-RICO, J. Three or two times daily milking of older cows and first lactation cows for entire lactations. **Journal Dairy Science**, v.68, p.123-132, 1985.

DEVRIES, T.J. VON KEYSERLINGK, M.A.G.; BEAUCHEMIN, K.A. Frequency of feed delivery affects the behavior of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.3553-3562, 2005. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002203020573040X>

DEVRIES, T.J.; VON KEYSERLINGK, M.A.G. Feed stalls affect the social and feeding behavior of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.89, p.3522-3531, 2006. <http://www.wcds.ca/proc/2006/Abstracts/Feed%20stalls%20affect%20behaviour.pdf>

DEVRIES, T.J.; VON KEYSERLINGK, M.A.G.; BEAUCHEMIN, K.A. Diurnal feeding pattern of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.4079-4082, 2003. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002203020374020X>

DIAS, F.M.G.N. Efeito da condição corporal, razão peso/altura e peso vivo sobre o desempenho reprodutivo pós-parto de vacas de corte zebuínas. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia)** – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 100p, 1991.

DOMINGUES, P.F., LANGONI, H., LISTONI, F.J.P. Mastite bovina e produção leiteira. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v.4, p.13, 1999.

DONALDSON, Z.R.; YOUNG, L.J. Oxytocin vasopressin and the neurogenetics of sociality. **Science**, v.322, p.900–904, 2008.

DOORNENBAL, H; TONG, A K; MURRAY, N L. Reference values of blood parameters in beef cattle of different ages and stages of lactation. **Canadian Journal Veterinary Research**, Ottawa, v.52, n.1, p.99-105, 1988.

DUNCAN, I.J.H.; Welfare is to do with what animals feel. **Journal Agriculture Environment Ethics** (Suppl. 2), v.6, p.8–14, 1993.

DUNCAN, J.R.; PRASSE, K.W. Patologia Clínica Veterinária. 1 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 217p., 1982.

ENGELKING, L.R. **Fisiologia endócrina e metabólica em medicina veterinária**, 2ª Ed. São Paulo: Roca, 184p, 2010.

ERICKSON, P.S.; MURPHY, M.R.; CLARK, J.H. Supplementation of dairy cow diets with calcium salts of long-chain fatty acids and nicotinic acid in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.4, p.1078-1089, 1992.

FARWELL, S.O.; KAGEL, R.A.;GUTEMBERGER, S.K.; OLSON, D.P. Weak Calf Syndrome and the Determination of Cortisol: Adapting Literature Methods to Real-Life Problems. **Analytical Chemistry**, v.85, p.885-895, 1983.

FERREIRA, A.B.H. Mini Aurélio – **O Dicionário da Língua Portuguesa**. 6ª Ed. Curitiba: Editora Positivo, 896p, 2004.

FERREIRA, A.M.; TORRES, C.A.A. Glicose e lipídeos totais como indicadores de “status” nutricional de bovinos. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 21, n. 2, p. 339-345, 1992.

FERREIRA, S.F.; MALAFAIA, P.A.M.; CLIPES, R.C.; JOÃO ALMEIDA, C.C. Suplementação de novilhos Red Angus x Nelore criados em pastagem tropical durante a época chuvosa. **Ciência Animal Brasileira**, v.13, n.1, p. 15 - 23, 2012. <http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/9046>

FILIPPI, S.; VIGNOZZI, L.; VANNELLI, G.B.; LEDDA, F.; FORTI, G.; MAGGI, M. Role of oxytocin in the ejaculatory process. **Journal of Endocrinological Investigation**, v.26, n.3, p.82-86, 2003.

FAGLIARI, J.J.; SANTANA, A.E.; LUCAS, F.A. Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.50, p.253-262, 1998.

FLEMMING, A.S.; O'DAY, G.H.; KRAEMER, G.W. Neurobiology of mother-infant interactions: experience and central nervous system plasticity across development and generations. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v.23, n.5, p.673-785, 1999. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10392659>

FRASER, A.F. **Comportamiento de los animales de la granja**. Zaragoza: Acribia, 291p, 1980.

FRASER, C. M. **Manual merck de veterinária**. 6. ed. São Paulo: Roca, 2169 p, 1991.

FRASER, D. Animal ethics and animal welfare science: bridging the two cultures. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 65, p.171–189, 1999.

FRASER, D.; WEARY, D.M.; PAJOR, E.A.; MILLIGAN, B.N. A scientific conception of animal welfare that reflects ethical concerns. **Animal Welfare**, v.6, p.187-205, 1997.

FUCHS, A.; BEHRENS, O.; HELMER, H.; VANGSTED, A.; IVANISEVIC, M.; GRIFO, J.; BARROS, C.; FIELDS, M. Oxytocin and vasopressin binding sites in human and bovine ovaries. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v.163, p.1961-1967, 1990a.

FUCHS, A.R.; BEHRENS, O.; HELMER, H.; LIU, C.H.; BARROS, C.M.; FIELDS, M.J. Oxytocin and vasopressin receptors in bovine endometrium and myometrium during the estrous cycle and early pregnancy. **Endocrinology**, v.127, p.629-636, 1990b.

FUCHS, A-R.; AYROMLOOI, J.; RASMUSSEN, A.B. Oxytocin response to conditioned and nonconditioned stimuli in lactating ewes. **Biology Reproduction**, v.37, p. 301-305, 1987.

GAIATO, A.P.R.; TAISSA DE SOUZA CANAES, T.S.; GONÇALVES, T.F.; DELGADO, I.V.B.; NEGRÃO, J.A. Contagem de células somáticas e produção leiteira em cabras Saanen estressadas via aplicação de ACTH. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.5, p.1236-1242, 2012. <http://www.scielo.br/pdf/rbz/v41n5/22.pdf>

GALVIS, R.; CORREA, H.; RAMÍREZ, F. Interacciones entre el balance nutricional, los indicadores Del metabolismo energético y proteico y las concentraciones plasmáticas de Insulina, e IGF-1 en vacas en lactancia temprana. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuárias**, v.16, p.237-248, 2003.

GARCÉS, M.L.V. et al. Observaciones hematoquímicas em um rebanho de vacas lecheras com freqüentes estados de anemia. **Revista Produccion Animal**, Camaguey, v.13, n.1, p.83-88, 2001.

GATTO, E.G. Reatividade ao manejo de novilhos Nelore confinados e suas relações com cortisol plasmático, temperatura corporal e desempenho. **Dissertação (Mestrado Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, universidade de São Paulo)**, 2007, 48p. <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/74/74131/tde-24042007-135252/pt-br.php>

GEISHAUSER, T.; LESLIE, K.E.; KELTON, D.F.; DUFFIELD, T. Evaluation of eighth cowside test for use with milk to detect subclinical ketosis in dairy cows. **Journal Dairy Science**, Champaign, n. 81, p. 438-443, 1998.

GIOVENARDI, M.; PADOIN, M.; CADORE, L.P.; LUCION, A.B. Hypothalamic paraventricular nucleus modulates maternal aggression in rats: effects of ibotenic acid lesion and oxytocin antisense. **Physiology Behavior.**, v.63, n.3, p.351-359, 1998.

GOMES, C.C.M.; HÖTZEL, M.J.; MACHADO FILHO, L.C.P; MARTENDAL, A.; LEITE, S.A.; VIANA, H.; GONÇALVES, M.W. Qualidade da relação humano-animal na criação de vacas leiteiras (*Bos taurus*) a pasto: validação de técnicas convencionalmente utilizadas para a avaliação do medo. In: **Congresso Internacional de Conceitos em Bem-estar Animal**, 2, Rio de Janeiro, RJ. Anais... Rio de Janeiro: WSPA, p.60, 2007.

GONÇALVES, B.P.; PETERS, M.D.P.; HONORATO, L.A.; LOURENÇO, L.A.; BARBOSA SILVEIRA, I.D. Distância de fuga e reatividade de vacas leiteiras de raças distintas. **XXI CIC, XII ENPOS, II Mostra Científica**, 2010.

GONÇALVES, R.C. et al. Influência da idade e do sexo sobre o hemograma, proteínas séricas totais, albumina e globulina de bovinos sadios da raça Guzerá (*Bos indicus*). **Veterinárias Notícias**, Uberlândia, v.7, n.1, p.61-68, 2001.

GONZÁLEZ, F. H. D. O perfil metabólico no estudo de doenças da produção em vacas leiteiras. **Arquivo Faculdade Veterinária**, v. 25, n. 2, p. 13-33, 1997.

GONZÁLEZ, F. H. D. Uso do perfil metabólico para determinar o status nutricional em gado de corte. In: González, F. H. D.; Barcellos, J. O.; Ospina, H.; Ribeiro, L. A. O. (Eds.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.

GONZÁLEZ F.H.D., HAIDA K., ZANELLA R., FIGUR K. Influência da época do ano no perfil metabólico em gado leiteiro no sul do Brasil. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 24, p. 11-24. 1996.

GONZÁLEZ, F.H.D., SCHEFFER, J.F.S. **Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional**. In: SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA

REGIÃO SUL DO BRASIL, PORTO ALEGRE, 1. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2003. p. 73-89, 2003.

GONZÁLEZ, F.D.; SILVA, S.C. Bioquímica clínica de lípidos. In: Introdução à bioquímica clínica veterinária. Porto Alegre: Editora Universidade Federal do Rio Grande do Sul, (4): 121-151, 2006.

GONZÁLEZ, F.H.D.; ROCHA, J.A.R. Variations in the metabolic profile of Holstein cows of different milk yields in southern Brasil. **Arquivo Faculdade Veterinária UFRGS**, v. 26, n. 1, p.52-54, 1998.

GONZÁLEZ, F.H.D.; TORRES, C.A.A.; VETROMILA, M.A.M. Efeito da condição corporal em novilhas mestiças sobre a fertilidade e os níveis sanguíneos de glicose, albumina e progesterona pós-serviço. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 22, n. 3, p. 439-444, 1993.

GOREWIT, R.C.; SVENNERSTEN, K.; BUTLER, W.R.; UVNÄS-MOBERG, K. Endocrine responses in cows milked by hand and machine. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p.443-448, 1992.

GRANDIN, T. Behavioral agitation during handling of cattle is persistent over time. **Applied Animal Behaviour Science**, v.36, p.1-9, 1993.

GRANT, R.J.; ALBRIGHT, J.L. Feeding behavior and management factors during the transition period in dairy cattle. **Journal Animal Science**, v.73, p.2791-2803, 1995.

GRAZZINI, E.; GUILLON, G.; MOUILLAC, B.; ZINGG, H.H. Inhibition of oxytocin receptor function by direct binding of progesterone. **Nature**, v.392, p.509-512, 1998. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9548257>

GREGORY, L. Valores padrões de referência de parâmetros bioquímicos séricos utilizados na avaliação das funções hepática e renal de bovinos da raça Jersey, criados no Estado de São Paulo. 161f. **Dissertação (Mestrado)** - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo. 1995.

GREGORY, L.; BIRGEL JUNIOR, E.H.; MIRANDOLA, R.M.S.; ARAÚJO, W.P.; BIRGEL, E.H. Valores de referência da atividade enzimática da aspartato-aminotransferase e da gama-glutamilttransferase em bovinos da raça Jersey. Influência dos fatores etários, sexuais e da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.51, n.6, p. 515-522, 1999. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09351999000600001

GREGORY, L.; BIRGEL JUNIOR, E. H.; D'ANGELINO, F. J.; BENESI, F. J. ; BIRGEL, E. H. Valores de referência dos teores séricos da uréia e creatinina em bovinos da raça Jersey criados no Estado de São Paulo. Influência dos fatores etários, sexuais e da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos. **Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo**, v. 71, n. 3, p. 339-345, 2004.

GREGORY, R.M.; SIQUEIRA, A.J.S. Fertilidade de vacas de corte com diferentes níveis de albumina sérica em aleitamento permanente e interrompido. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 7, n. 1, p. 47-50, 1983.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 11^a ed. Rio de Janeiro, Elsevier Ed., 2006.

HAFEZ, E.S.E.; BOUISSOU, M.F. The behavior of cattle. In: Hafez ESE (Ed.). **The behavior of domestic animals**. 3rd ed. London: Baillière Tindall, p.203-245, 1975.

HAFEZ, E.S.E., SCHEIN, M.W. The behaviour of cattle. In: HAFEZ, E.S.E. **The behaviour of domestic animals**. London: Baillière, Tindall & Cox, 619p., 1962.

HAIDA, K. S.; DIAZ GONZÁLEZ, F. H.; PARZIANELLO et al. Estudo do perfil metabólico de um rebanho leiteiro do Oeste do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.17, n.1, p.72-76, 1996.

HAMANN, J.; DODD, F.H. Milking Routines. **Machine milking and lactation**, Edited by A.J. BRAMLEY, F.H.; DODD, G.A.; BRAMLEY, J.A. Insight Books, p. 81-96, 1992.

HAMANN, J.; TOLLE, A. Comparison between manual and mechanical stimulation. **Milchwissenschaft**, v. 35, p.271-273, 1980.

HARGREAVES, A.L.; HUTSON, G.D. The effect of gentling on heart rate, flight distance and aversion of sheep to a handling procedure. **Applied Animal Behavior Science**, v.26, p. 243-252, 1990.

HARMON, R.J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal Dairy Science**, v.77, p.210, 1994.

HAROARSON, G.H. Is the modern high potential dairy cow suitable for organic farming conditions? **Acta Veterinaria Scandinava**, Supplemento, v.95, p.63-67, 2001.

HEALD, C.W. **Milk Collection**. Lactation, Edited by Bruce L. Larson. Iowa State Press, p. 220-222, 1985.

HEIN, K.G.; ALLRICH, R.D. Influence of exogenous adrenocorticotrophic hormone on estrous behavior in cattle. **Journal Animal Science**; 70:243-7, 1992.

HEINRICHS, M.; DAWANS, B.V.; DOMES, G. OXYTOCIN, vasopressin, and human social behavior. *frontiers in neuroendocrinology*, v.30, p.548-557, 2009. <http://www.wish2connect.nl/plaintext/downloads/heinrichsetal..pdf>

HEINRICHS, M.; BAUMGARTNER, T.; KIRSCHBAUM, C.; EHLERT, U. Social support and oxytocin interact to suppress cortisol and subjective responses to psychosocial stress. **Biology Psychiatry**, v.15, n.54, p.1389-1398, 2003. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322303004657>

HEMSWORTH, P. H.; COLEMAN, G. J.; BARNETT, J. L.; BORG, S. Relationships between human-animal interactions and productivity of commercial dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 2821-2831, 2000.

HEMSWORTH, P.H.; BARNETT, J.L.; COLEMAN, G.J. The human-animal relationship in agriculture and its consequences for the animal. **Animal Welfare**, v. 2, p. 33-51, 1993.

HEMSWORTH, P.H.; COLEMAN, G.J. **Human-livestock interactions: the stockperson and the productivity and welfare of intensively farmed animal**. Wallingford: Cab International, 152p. 1998.

HEMSWORTH, P.H.; COLEMAN, G.J.; COX, M.; BARNETT, J.L. Stimulus- generalization - the inability of pigs to discriminate between humans on the basis of their previous handling experience. **Applied Animal Behavior Science**, v.40, p. 129-142, 1994.

HERDT, H. H. Ruminant adaptation to negative energy balance. **The Veterinary Clinics of North America: food animal practice**, v. 16, n. 2, p. 215-229, 2000.

HILLERTON, J.E.; KNIGHT, C.H.; TURVEY, A. Milk yield and mammary function in dairy cows milked four times daily. **Journal of Dairy Research**, v.57, n.3, p.285-294, 1990.

HILLERTON, J.E.; SEMMENS, J.E. Comparison of treatment of mastitis by oxytocin or antibiotics following detection according to changes in milk electrical conductivity prior to visible signs. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.1, p.93-98, 1999.

HOLLANDER, E.; BARTZ, J.; CHAPLIN, W.; PHILLIPS, A.; SUMNER, J.; SOORYA, L.; ANAGNOSTOU, E.; WASSERMAN, S. Oxytocin Increases Retention of Social Cognition in Autism. **Biology Psychiatry**, v.15, n.4, p.498-503, 2006.
<http://pt.scribd.com/doc/16532848/Oxytocin-Increases-Retention-of-Social-Cognition-in-Autism-Hollander-Et-Al-2006>

HOMEIDA, A. M.; COOKE, R. G. Biological half-life of oxytocin in the goat. **Research in Veterinary Science**, v.37, n.3, p.364-375, 1984.

HONORATO, L.A.; HÖTZEL, M.J.; GOMES, C.C.M.; SILVEIRA, I.D.B.; MACHADO FILHO, L.C.P. Particularidades relevantes da interação humano-animal para o bem-estar e produtividade de vacas leiteiras. **Ciência Rural**, v.42, n.2, p.332-339, fev, 2012.
http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782012000200023&script=sci_arttext

HÖTZEL, M.J.; GOMES, C.C.M.; MACHADO FILHO, L.C.P. Comportamento de vacas leiteiras submetidas a um manejo aversivo. **Biotemas**, v.22, n.1, p.135-140, 2009.
<http://www.biotemas.ufsc.br/volumes/pdf/volume221/pdf135a140.pdf>

HÖTZEL, M.J.; MACHADO FILHO, L.C.P. Bem-estar Animal na Agricultura do século XXI. **Revista de Etologia**, nº1, v.6, p. 03-15, 2004.

HÖTZEL, M.J.; MACHADO FILHO, L.C.P.; YUNES, M.C.; SILVEIRA, M.C.A.C. Influência de um ordenhador aversivo sobre a produção leiteira de vacas da raça holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.4, p.1278-1284, 2005.

HURNIK, J. **Behaviour farm animal and the environment**. Cambridge: CAB International, 1992. <http://www.revista.sbz.org.br/artigo/visualizar.php?artigo=66669>

HUZZEY, J.M.; VON KEYSERLINGK, M.A.; WEARY, D.M. Changes in feeding, drinking and standing behavior of dairy cows during the transition period. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.2454-2461, 2005.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030205729234>

HYDBRING, E.; MADEJ, A.; MACDONALD, E.; DRUGGE-BOHOLM, G.; BERGLUND, B.; OLSSSEN, K. Hormonal changes during parturition in heifers and goats are related to the phases and severity of labour. **Journal of Endocrinology**, v.160, n.1, p.75-85, 1999.

INSEL, T.R.; YOUNG, L.J. The neurobiology of attachment. **Nature Reviews Neuroscience**, v.2, p.129–136, 2001.

IVELL, R.; RUST, W.; EINSPANIER, A.; HARTUNG, S.; FIELDS, M.; FUCHS, A.R. Oxytocin and oxytocin receptor gene expression in the reproductive tract of the pregnant cow: rescue of luteal oxytocin production at term. **Biology Reproduction**, v.53, p.553-560, 1995.

JAIN, N.C. Essentials of veterinary hematology. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.

JENG SU, W.; JU CHANG, C.; CHENG PEH, H.; LIN LEE, S.; CHIOU HUANG, M.; ZHAO, X. Apoptosis and oxidative stress infiltrated neutrophils obtained from mammary glands of goats during various stages of lactation. **American Journal of Veterinary Research**, v.63, p.241- 246, 2002.

JENKINS, S.J.; GREEN, S.A.; CLARK, P.A. Clinical chemistry reference values of normal domestic animals in various age groups - AS Determined on the ABA - 100. **Cornell Vet.**, v.72, p.403-415, 1982

JOËLS, M.; BARAM, T. The neuro-symphony of estress. **Nature Reviews – Neuroscience**, v.10, p. 459-466, 2009.

JOHNSON, H.D.; RASGADALE, A.C.; BERRY, I.L. Enviromental physiology a shelter engineering. LXVI Temperature-humidity effects including influence of acclimation in feed and water consumption of Holstein cattle. **Agricultural Experiment Station Research Bulletin**, n.846, p.3-14, 1963.

KANDEL, E.R. **Cellular basis of behavior**. W.H. Freeman & Company Publishers: San Francisco, 1976.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed, 932p ,New York: Academic Press, 1997.

KASTELIC, J.P. Spontaneous embryonic death on days 20 to 40 in heifers. **Theriogenology**, v.35, p.351-363, 2003.

KENDRICK, K.M.; KEVERNE, E.B.; CHAPMAN, C.; BALDWIN, B.A Intracranial dialysis measurement of oxytocin, monoamine and uric acid release from the olfactory bulb and substantia nigra of sheep during parturition, suckling, separation from lambs and eating. **Brain Research**, v.26, n.1-2, p.01-10, 2000.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0006899388914552>

KIDA, K. Relationship of metabolic profiles to milk production and feeding in dairy cows. **Journal of Veterinary and Medicine Science**, v. 65, n. 6, p. 671-677, 2003.

KIERSZENVBAUM, L.A.; TRES, L.L. **Histologia e Biologia Celular: Uma Introdução à Patologia**. Rio de Janeiro, Saunders Elsevie, 3ª Ed. 704p, 2012.

KILEY, M. Fostering and adoption in beef cattle. **British Cattle Breeders Club**, v.38, p.42-55, 1976.

KNIGHT, C. H.; HIRST D.; DEWHURST R. J.. Milk accumulation and distribution in the bovine udder during the interval between milkings. **Journal Dairy Research**, v.61, p.167-177, 1994.

KNIGHT, C.H.; HILLERTON, J.E.; KERR, M.A.; TEVERSON, R.M.; TURVEY, A.; WILDE, C.J. Separate and additive stimulation of bovine milk yield by the local and systemic galactopoietic stimuli of frequent milking and growth hormone. **Journal of Dairy Research**, v.59, n.3, p.243-252, 1992.

KNIGHTS, M.; SMITH, G.W. Decreased ACTH secretion during prolonged transportation stress is associated with reduced pituitary responsiveness to tropic hormone stimulation in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v.33, p.442-450, 2006.

KONDO, S.; MARUGUCHI, H.; NISHINO, S. Spatial and social behavior of calves in reduced dry-lot space. **Japanese Journal Zootechny Science**, v.55, p.71-77, 1984.

KRAWCZEL, P.; GRANT, R. Effects of cow comfort on milk quality, productivity and behavior. **NMC Annual Meeting Proceedings**, p.15-24, 2009. Disponível em: <http://nmconline.org/articles/comfortSCC.pdf>

KROHN, C.C.; JAGO, J.G.; BOIVIN, X. The effect of early handling on the socialization of young calves to humans. **Applied Animal Behaviour Science**, v.74, P. 121-133, 2001.

LACY-HULBERT, S.J.; WOOLFORD, M.W.; NICHOLAS, G.D.; PROSSER, C.G.; STELWAGEN, K.. Effect of milking frequency and pasture intake on milk yield and composition of late lactation cows. **Journal Dairy Science**, v.82, p.1232-1239, 1999.

LANDGRAF R.; NEUMANN ID. Vasopressin and oxytocin release within the brain: a dynamic concept of multiple and variable modes of neuropeptide communication. **Frontiers Neuroendocrinology**, v.25, p.150-176, 2004. Disponível em: http://scholar.google.com.br/scholar?q=Vasopressin+and+oxytocin+release+within+the+brain%3A+a+dynamic+concept+of+multiple+and+variable+modes+of+neuropeptide+communication&btnG=&hl=en&as_sdt=0%2C5&as_vis=1

LEEMASTER, J.W; SEALS, R.C; HOPKINS, F.M; SCHRICK, F.N. Effect of administration of oxytocin on embryonic survival progesterone-supplemented cattle. **Prostaglandins**. v.57, p. 259-268, 1999.

LEFCOURT, A.M.; ELSASSER, T.H. Adrenal responses of Angus x Hereford cattle to the stress of weaning. **Journal of Animal Science**, v.73, n.9, p.2669-2675, 1995.

LE NEINDRE, P. Influence of rearing conditions and breed on social behaviour and activity of cattle in novel environments. **Applied Animal Behaviour Science**, v.23, p.129-140, 1989.

LE NEINDRE, P.; POINDRON, P.; DELOUIS, C. Hormonal induction of maternal behavior in non-pregnant ewes. **Physiology and behavior**, v.22, p.731-734, 1979.

LENSINK, B.J.; FERNANDEZ, X.; BOIVIN, X.; PRADEL, P.; LE NEINDRE, P.; VEISSIER, I. The impact of gentle contacts on ease of handling, welfare, and growth of

calves and on quality of veal meat. **Journal of Animal Science**, v.78, p.1219-1226, 2000. <http://www.journalofanimalscience.org/content/78/5/1219.full.pdf>

LÉVY, F.; LOCATELLI, A.; PIKETTY, V. TILLET, Y. ;POINDRON, P. Involvement of the main but not the accessory olfactory system in maternal behavior of primiparous and multiparous ewes. **Physiology & Behavior**, v. 57, p. 97-104, 1995.

LÉVY, F.; POINDRON, P. The importance of amniotic fluids for the establishment of maternal behaviour in experienced and inexperienced ewes. **Animal Behaviour**, v.4, n.4, p.1188–1192, 1987. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003347287801756>

LIM, M.M.; YOUNG, L.J. Neuropeptidergic regulation of affiliative behavior and social bonding in animals. **Hormones and Behavior**, v.50, p.506–517, 2006.

LINCOLN, D.W.; PAISLEY, A.C. Neuroendocrine control of milk ejection. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.65, n.2, p.571-586, p.1982. <http://www.reproduction-online.org/content/65/2/571.full.pdf+html>

LUDWIG M, LENG G. Dendritic peptide release and peptide-dependent behaviours. **Nature Reviews Neuroscience**; 7: 126–136, 2006. <http://www.nature.com/nrn/journal/v7/n2/abs/nrn1845.html>

LUDWIG M, PITTMAN QJ. Talking back: dendritic neurotransmitter release. **Trends Neuroscience**, v.26, p.255–261, 2003. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166223603000729>

LUND, V.; ROCKLINSBERG, H. Outlining a conception of animal welfare for organic farming systems. **Journal of Agricultural & Environmental Ethics**, v.14, p.391-424, 2001.

MACIEL, A.B.B. Proposta de avaliação da condição corporal em vacas holandesas e nelores. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia)** – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 103 p., 2006.

MADELLA-OLIVEIRA, A.F.; BASTOS, N.; QUIRINO, C.R. Comportamentos de amamentação e mamada em bubalinos, suas relações com período de lactação, idade e sexo dos bezerros. **Revista Ceres**, v.57, n.2, p.211-217, 2010.

MAEJIMA, Y.; IWASAKI, Y.; YAMAHARA, Y.; KODAIRA, M.; SEDBAZAR, U.; YADA, T. Peripheral oxytocin treatment ameliorates obesity by reducing food intake and visceral fat mass. **AGING**, v.3, n.12, p.1169-1177, 2011. Disponível em: <http://www.impactaging.com/papers/v3/n12/pdf/100408.pdf>

MAEJIMA, Y.; SEDBAZAR, U.; SUYAMA, S.; KOHNO, D. Oxytocin, vasopressin, and the neurogenetics of sociality. **Science**, v.322, p.900- 904, 2008.

MANN GE, LAMMING GE, ROBINSON RS, WATHES DC. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.54, p.317-328, 2001.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E.; PAYNE, J.H. The role of early luteal phase progesterone in the control of the timing of the luteolytic signal in the cow. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.113 p.47–51. 1998.

MARNET, P.G.; MCKUSICK, B.C. Regulation of milk ejection and milkability in small ruminants. **Livestock Production Science**, v.70, p.125-133, 2001.

MARNET, P.G.; NEGRÃO, J.A. The effect of a mixed-management system on the release of oxytocin, prolactin and cortisol in ewes during suckling and machine milking. **Reproduction Nutrition Development**, v.40, n.3, p.271-281, 2000.

MARNET, P.G.; NEGRÃO, J.A.; LABUSSIÈRE, J. Oxytocin release and milk ejection parameters during milking of dairy ewes in and out of natural season of lactation. **Small Ruminants Research**, v.28, n.2, p.183-191, 1998.

MARQUES, J.A. **O stress e a nutrição de bovinos**, Maringá: Imprensa Universitária, 2000.

MAYER, H.; BRUCKMAIER, R.; SCHAMS, D. Lactational changes in oxytocin release, intramammary pressure and milking characteristics in dairy cows. **Journal of Dairy Research**, v.58, p.159-169, 1991.

MAZIERO, R.R.D.; MARTIN, I.; MATTOS, M.C.C.; FERREIRA, J.C.P. Avaliação das concentrações plasmáticas de cortisol e progesterona em vacas nelore (*Bos taurus indicus*) submetidas a manejo diário ou manejo semanal. **Veterinária e Zootecnia**, v.19, n.3, p.366-372, 2012. <http://www.fmvz.unesp.br/rvz/index.php/rvz/article/viewFile/476/367>

MCKUSICK, B.C.; THOMAS, D.L.; BERGER, Y.M.; AND MARNET, P.G. Effect of milking intervals on alveolar versus cisternal milk accumulation and milk production and composition in dairy ewes. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2197-2206, 2002. <http://www.researchgate.net/publication/11096321>

MEYER, D.J.; HARVEY, J.W. **Veterinary laboratory medicine: interpretation & diagnosis**. 2.ed. Philadelphia: Saunders, 351p, 2004.

MENCH, J.A. Assessing welfare: an overview. **Journal of Agricultural & Environmental Ethics**, v.6, p. 68-75, 1993.

MENEGAZ, A.L.; LOBATO, J.F.L.; PEREIRA, A.C.G. Influência do manejo alimentar no ganho de peso e no desempenho reprodutivo de novilhas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.10, p.1844-1852, 2008. <http://www.scielo.br/pdf/rbz/v37n10/19.pdf>

MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. **Veterinary laboratory medicine: interpretation and diagnosis**. Philadelphia, Saunders, 350p. 1992.

MORMÈDE, P.; ANDANSON, S.; AUPÉRIN, B.; BEERDA, B.; GUÉMÉNÉ, D.; MALMKVIST, J.; MANTECA, X; MANTEUFFEL, G.; RICHARD, S.; VEISSIER, I. Exploration of the hypothalamic–pituitary–adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. **Journal of Affective Disorders**, v.91, n.2-3, p.113-124, 2006. https://djfextranet.agrsci.dk/sites/stressbiologi/public/Documents/Articles/Mormede_etal_2007.pdf

MORTON, G.; THACHER, B.; REIDELBERGER, R.D.; OGIMOTO, K.; WOLDEN- HANSON, T.; BASKIN, D.G.; SCHWARTZ, M.W.; BLEVINS, J. Peripheral oxytocin suppresses food intake and causes weight loss in diet- induced obese rats. **American**

Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism, v.302, n.1, p.134-144, 2011.
<http://ajpendo.physiology.org/content/302/1/E134.full>

MÜLLER, P.B. **Bioclimatologia aplicada aos animais domésticos**. Porto Alegre: Sulina, 262p, 1989.

MUNKSGAARD, L.; DE PASSILLE, A.M.; RUSHEN, J.; HERSKIN, M.S.; KRISTENSEN, A.M. **Applied Animal Behaviour Science**, v.73, p.15-26, 2001.

MURUGAIYAH, M.; RAMAKRISHNAN, P.; SHEIKH OMAR, A.R.; KNIGHT, C.H.; AND WILDE, C.J. Lactation failure in crossbred Sahiwal Friesian cattle. **Journal of Dairy Research**, v.68, p.165-174, 2001.
<http://journals.cambridge.org/action/displayAbstract?sessionId=62668F2EE829E1A83A68F2384D51F028.journals?fromPage=online&aid=82311>

NEGRÃO, J.A.; MARNET, P.G. Cortisol, adrenalin, noradrenalin and oxytocin and milk yield during first milkings in primiparous ewes. **Small Ruminant Research**, v.47, p.69-75, 2003.
<http://www.journals.elsevierhealth.com/periodicals/rumin/article/PIIS092144880200247X/abstract>

NEGRÃO, J.A.; MARNET, P.G. Effect of calf suckling on oxytocin, prolactin, growth hormone and milk yield in crossbred Gir X Holstein cows during milking. **Reproduction Nutrition Development**, v.42, p.373-380, 2002.

NELSON, E.E.; PANKSEPP, J. Brain Substrates of Infant–Mother Attachment: Contributions of Opioids, Oxytocin, and Norepinephrine. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v.22, n.3, p.437–452, 1998. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149763497000523>

NEUMANN, I.D. Brain Oxytocin: A Key Regulator of Emotional and Social Behaviours in Both Females and Males. **Journal of Neuroendocrinology**, v.20, p.858–865, 2008.
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2826.2008.01726.x/pdf>

NEUMANN, I.D.; KROMER, S.A.; TOSCHI, N.; EBNER, K. Brain oxytocin inhibits the (re)activity of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis in male rats: involvement of hypothalamic and limbic brain regions. **Regulatory peptides**, v.96, p.31-38, 2000.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016701150000197X>

NICKERSON, S.C. **Anatomy and physiology of the udder**. Edited by BRAMLEY, A.J.; DODD, F.H.; MEIN, G.A.; BRAMLEY, D.J.A. Machine milking and lactation. Insight Books, p.63-66, 1992.

OKUDA, K.; MIYAMOTO, A.; SAUERWEIN, H.; SCHWEIGERT, F.J.; SCHAMS, D. Evidence for oxytocin receptors in cultured bovine luteal cells. **Biology Reproduction**, v.46, p.1001-1006, 1992.

OLIVEIRA JUNIOR, R. C.; PIRES, A. V.; FERANADES, J. J. R.; SUSIN, I.; SANTOS, F. A. P.; ARAUJO, R. C. Substituição total do farelo de soja por uréia ou amiréia, em dietas com alto teor de concentrado, sobre a amônia ruminal, os parâmetros sanguíneos e o metabolismo de nitrogênio em bovinos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 738-748, 2004.

OLIVEIRA, M. Fisiologia da reprodução bovina e métodos de controle do ciclo estral. 2006. 28 f. **Tese (Especialização em Reprodução e Produção de Bovinos)** - UNIVERSIDADE CASTELO BRANCO, Rio de Janeiro, 2006.

OLIVEIRA, P. A.; MARQUES, J. A.; BARBOSA, L. P.; OLIVEIRA, G. J. C.; PEDREIRA, T. M.; SILVA, L. L. Aspectos metodológicos do comportamento ingestivo de vacas lactantes em pastejo de *Brachiaria decumbens*. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.12, n.1, p.166-175, 2011. <http://revistas.ufba.br/index.php/rbspa/article/view/1889/1094>

OLTNER, R.; WIKTORSSON, H. Urea concentration in milk and blood as influenced by feeding varying amounts of protein and energy to dairy cows. **Livestock Production Science**, v. 10, n. 5, p. 457-467, 1983.

ONAKA, T.; TAKAYANAGI, Y.; YOSHIDA M. Roles of Oxytocin Neurones in the Control of Stress, Energy Metabolism, and Social behaviour. **Journal of Neuroendocrinology**, v.24, n.4, p.587-598, 2012. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2826.2012.02300.x/pdf>

OSÓRIO, J.H.; VINAZCO, J. El metabolismo lipídico bovino y su relación con la dieta, condición corporal, estado productivo y patologías asociadas. **Biosalud**, v.9, n.2, p.56-66, 2010. [http://biosalud.ucaldas.edu.co/downloads/Biosalud9\(2\)_7.pdf](http://biosalud.ucaldas.edu.co/downloads/Biosalud9(2)_7.pdf)

PAJOR, E.A.; RUSHEN, J.; DE PASSILLE, A.M.B. Dairy cattle's choice of handling treatments in a Y-maze. **Applied Animal Behaviour Science**, v.80, p.93-107, 2003.

PALMQUIST, D.L.; MOSER, E.A. Dietary fat effects on blood insulin, glucose utilization, and milk protein content of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.64, n.8, p.1664-1670, 1981.

PARANHOS DA COSTA, M.J.R, NASCIMENTO JR, AF. Stress e comportamento. In: **Semana de Zootecnia**, 11, Pirassuninga, SP. *Anais ...Pirassuninga*, SP: FMVZ/USP, p. 65-72, 1986.

PARANHOS DA COSTA, M.J.R. Comportamento dos animais de fazenda: reflexos na produtividade. In: **Encontro Anual de Etologia**, 5, Anais... Jaboticabal-SP, FUNEP, p.159-168, 1987.

PARANHOS DA COSTA, M.J.R. Etologia e Produtividade Animal, **Zootecnia**, Recife-PE, 2006. Disponível em www.abz.org.br/publicacoes-tecnicas/anais-zootec/palestras/3730-Etologia-Produtividade-Animal.html. Acesso em: 29 jan. 2013.

PARANHOS DA COSTA, M.J.R; COSTA E SILVA, E.V. Aspectos básicos do comportamento social de bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.1, p.172-176, 2007.

PARANHOS DA COSTA, M.J.R; COSTA E SILVA, E.V; CHIQUITELLI NETO, M.E; ROSA, M.S. Contribuição dos estudos de comportamento de bovinos para implementação de programas de qualidade de carne. In: F.da S. Albuquerque (org.) **Anais do XX Encontro Anual de Etologia**, Sociedade Brasileira de Etologia: Natal-RN, p.71-89, 2002.

PARANHOS DA COSTA, M.J.R; CROMBERG, V.U. Alguns aspectos a serem considerados para melhorar o bem-estar de animais em sistemas de pastejo rotacionado. In: Peixoto A M, Moura JC, Faria VP. (Ed.). **Fundamentos do pastejo rotacionado**. Piracicaba: FEALQ, p.273-296, 1997.

PARDO, R.M.P.; FISCHER, V.; BALBINOTTI, M.; MORENO, C.B.; FERREIRA, E.X.; VINHA R.J.; MONK, P.L. Comportamento ingestivo diurno de novilhos em pastejo submetidos a níveis crescentes de suplementação energética. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1408-1418, 2003. <http://www.scielo.br/pdf/rbz/v39n9/a28v39n9.pdf>

PARKER, K.J.; BUCKMASTER, C.L.; SCHATZBERG, A.F.; LYONS, D.M. Intranasal oxytocin administration attenuates the ACTH stress response in monkeys. **Psychoneuroendocrinology**, v.30, p.924–929, 2005.

PASSINI, R.; FERREIRA, F. A.; BORGATTI, L. M. O. P.; TERÊNCIO, H.; SOUZA, R. T. Y. B.; RODRIGUES; P. H. M. Estresse térmico sobre a seleção da dieta por bovinos. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 31, n. 3, p. 303-309, 2009. <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/viewFile/6293/6293>

PAYNE, J. M., PAYNE, S. **The metabolic profile test**. New York : Oxford University, 179 p. 1987.

PAYNE, J. M.; DEW, S. M.; MANSTON, R.; MANSTON, R.; FAULKS, M. The use of metabolic profile test in dairy herds. **Veterinary Record**, v.87, p. 150-158, 1970.

PEDERSEN, C.A. Induction of maternal behavior in virgin rats after intracerebroventricular administration of oxytocin. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.76, p.6661–6665, 1982. <http://www.pnas.org/content/76/12/6661.short>

PEDERSEN, C.A. Oxytocin control of maternal behavior Regulation by sex steroids and offspring stimuli. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.807, p.126-145, 1997. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1749-6632.1997.tb51916.x/abstract>

PEIXOTO, L.A.O.; BRONDANI, I.L.; NÖRNBERG, J.L.; RESTLE, J. ALVES FILHO, D.S.; PAZINI, M.; CORADINI, M.T.; MARQUES DOS SANTOS, C.V. Perfil metabólico protéico e taxas de concepção de vacas de corte mantidas em pastagem natural ou suplementadas com farelo de trigo com ou sem uréia. **Ciência Rural**, v.36, n.6, p.1873-1877, 2006. <http://www.scielo.br/pdf/%0D/cr/v36n6/a32v36n6.pdf>

PETERS, M.D.P, BARBOSA SILVEIRA, I.D.; PINHEIRO MACHADO FILHO, L.C.; MACHADO, A.A.; PEREIRA, L.M.R. Manejo aversivo em bovinos leiteiros e efeitos no bem-estar, comportamento e aspectos produtivos, **Archivos Zootecnia**, v.59, p.435-442, 2010. <http://scielo.isciii.es/pdf/azoo/v59n227/art11.pdf>

PETERS, M.D.P. Manejo aversivo em bovinos leiteiros e efeitos no bem-estar, comportamento e aspectos produtivos. **Dissertação (Mestrado em Produção Animal)** – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas. 2008. http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select_action=&co_obra=123220

- PHILLIPS, C J.C. Cattle Behaviour. Farming Press, **United Kingdom**, 152p., 1993.
- PHILLIPS, C.J.; RIND, M.I. The effects of social dominance on the production and behavior of grazing dairy cows offered forage supplements. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.1, p.51-59, 2001.
- POGLIANI, F. C. Valores de referência e influência dos fatores etários, sexuais e da gestação no lipidograma de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo. 134f. **Dissertação (mestrado em Clínica Veterinária)** Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 2006.
- POGLIANI, F.C.; BIRGEL JUNIOR, E. Valores de referência do lipidograma de bovinos da raça holandesa, criados no Estado de São Paulo Brazil. **Journal Veterinary Res. animal Science**, São Paulo, v. 44, n. 5, p. 373-383, 2007
- POGLIANI, F.C.; AZEDO, M.R.; SOUZA, R.M.; RAIMONDO, R.F.S.; BIRGEL JUNIOR, E.H. Influência da gestação e do puerpério no lipidograma de bovinos da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.2, p.273-280, 2010. <http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v62n2/05.pdf>
- POLLOCK, W.E.; HURNIK, J.F. Effect of calf calls on rate of milk release of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.61, p.1624-1626, 1978.
- PORCIONATO, M. A. F.; NEGRÃO, J. A.; LIMA, M. L. P. Produção de leite, leite residual e concentração hormonal de vacas Gir × Holandesa e Holandesa em ordenha mecanizada exclusiva. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.6, p.820-824, 2005. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352005000600018
- PORCIONATO, M.A.F.; NEGRÃO, J.A.; PAIVA, F.A.; DELGADO, T.F.G. Respostas produtivas e comportamentais durante a ordenha de vacas Holandesas em início de lactação. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.31, n.4, p.447-451, 2009. <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/view/6326>
- RADOSTITIS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. **Veterinary medicine. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10.ed. London: Saunders, 2065p., 2007.
- RADOSTITS, O. M., BLOOD D.C., GAY, C.C. **Clínica Veterinária. Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. RJ,1737p., 2002.
- RAMÍREZ, M.N. et al. Relación albumina:globulina plasmáticas en tres épocas Del año en vacas de la raza Carora Del estado Lara-Venezuela. In: CONGRESSO NACIONAL DE BUIATRIA, Vera Cruz. **Anales...Vera Cruz**, 2001.
- REINHARDT, V.; REINHARDT, A. Dynamics of social hierarchy in a dairy herd. **Z Tierpsychol**, v.38, p.315-323, 1975.
- REINHARDT, V.; REINHARDT, A. Natural suckling performance and age of weaning in zebu cattle (*Bos indicus*). **Journal Agriculture Science**, v.96, p.309-312, 1981.

REIS, L.S.L.S.; PARDO, P.E.; OBA, E.; KRONKA, S.N.; FRAZATTI-GALLINA, N.M. Matricaria chamomilla CH₁₂ decreases handling stress in Nelore calves. **Journal Veterinary Science**, 7(2):189-192. 2006.

REIST, M.; ERDIN, D. K.; VONEUW, D. et al. Estimation of energy balance at the individual and herd level using blood and milk traits in high-yielding dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 3314-3327, 2002.

REMOND, B.; OLLIER, A.; MIRANDA, G. Milking cows in late pregnancy: Milk production during this period and during the succeeding lactation. **Journal Dairy Research**, v.59, p.233-241, 1992.

RENNÓ NETO, B.P. Influência da aplicação da somatotropina recombinante bovina na função hepática, renal e lipidograma de bovinos da raça holandesa em lactação. 116 f. **Dissertação (Mestrado)** - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

RIBEIRO, L.A.O.; GONZÁLEZ, F.H.D.; CONCEIÇÃO, T.R. et al. Perfil metabólico de borregas Corriedale em pastagem nativa do Rio Grande do Sul. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.31, n. 3, p. 167-170, 2003.

RIBEIRO, L.A.O.; GREGORY, R.M.; MATTOS, R.C. Prenhez em rebanhos ovinos do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 32, n.4, p. 637-642, 2002. <http://www.scielo.br/pdf/cr/v32n4/a15v32n4.pdf>

RIBEIRO, L.A.O.; MATTOS, R.C.; GONZÁLEZ, F.H.D.; WALD,V.B.; SILVA, M.A.; LA ROSA, V.L. Perfil metabólico de ovelhas Border Leicester x Texel durante a gestação e a lactação. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.99, p.155-159, 2004.

RODRÍGUEZ, E.J.; CARANDE, V.G.; RODRÍGUEZ, V.A. Efecto de la restricción y la realimentación sobre la concentración de metabolitos sanguíneos. **Produção Animal**, v.5, n.1, p.1-12, 1985.

RODRÍGUEZ, J. Mecanismos para el reconocimiento materno de la preñez. In: MARACAIBO, G.C. (ed.) **Reproducción bovina**. Venezuela: Fundación GIRARZ, 2001.

ROSA, M.S. Ordenha sustentável: a interação retireiro-vaca. **Tese (Doutorado em Zootecnia)**. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal. 83p, 2004.

ROSA, M.S.; PARANHOS DA COSTA, M.J.R. Bem-estar de vacas leiteiras: a importância da qualidade da interação retireiro-vaca. **44ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, UNESP-Jaboticabal 24-27 de julho de 2007.

ROSA, M.S.; PARANHOS DA COSTA, M.J.R. Interagindo com os bovinos. Encontrado em: www.milkpoint.com.br/Sistemasdeprodução Publicado em 06/09/2002.

ROSENBERGER, G. **Clinical examination of cattle**. Verlag Paul Parey, Berlin: W. B. Saunders Company, Philadelphia. 453p, 1979.

ROSENBERGER, G. **Exame clínico dos bovinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 419p., 1993.

RUAS, J.R.M.; BRANDÃO, F.Z.; SILVA FILHO, J.M.; BORGES, Á.M.; CARVALHO, B. C.; MENEZES, A.C.; AMARAL, R.A.; NETO, A.M. Influência da frequência de ordenhas diárias sobre a eficiência produtiva de vacas mestiças Holandês-Zebu e o desempenho dos seus bezerros. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.35, n.2, p.428-434, 2006.

RUAS, J.R.M.; TORRES, C.A.A.; BORGES, L.E. et al. Concentrações plasmáticas de colesterol, glicose e uréia em vacas zebuínas, em relação à condição corporal e ao “status” reprodutivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, supl. 1, p.2036-2042, 2000.

RUKKWAMSUK, T.; KRUIP, T.A.M.; MEIJER, G.A.L.; WENSING, T. Hepatic fatty acid composition in periparturient dairy cows with fatty liver induced by intake of a high energy diet in the dry period. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.280-287, 1999.

RUSHEN, J.; De PASSIELLE, A.M.; MUNKSGAARD, L. Fear of people by cows and effects on milk yield, behavior, and heart rate at milking. **Journal Dairy Science**, v.82, n.4, p.720-727, 1999.

RUSHEN, J.; TAYLOR, A. A.; DE PASSILLE, A. M. Domestic animals' fear of humans and its effect on their welfare. **Applied Animal Behaviour Science**, 65 (3): 285-303. 1999b.

RUSSEL, J.B. Effect of carbon-4 and carbon-5 volatile fatty acids on growth of mixed rumen bacteria in vitro. **Journal Dairy Science**, v.66, p.52, suppl 1, 1983.

SALLES, M.G.F.; ARAÚJO, A.A. Corpo lúteo cíclico e gestacional: revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.34, n.3, p.185-194, 2010. Disponível em www.cbra.org.br

SANT'ANNA, A.C.; PARANHOS DA COSTA, M.J.R. Avaliação do bem-estar de animais de produção. Congresso Brasileiro de Bioética e Bem-estar Animal, **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v.13, suplemento 1, p. 29-35, 2010.

SANT'ANNA, A.C.; PARANHOS DA COSTA, M.J.R. Opinião dos ordenhadores sobre suas interações com as vacas leiteiras. In: Congresso Internacional de Conceitos em Bem-Estar Animal, 2. Rio de Janeiro: WSPA, 09-11, ago. **Anais...** p. 53-54, 2007.

SANT'ANNA, A.C.; PARANHOS DA COSTA, M.J.R.; ROSA, M.S.; MAGALHÃES SILVA, L.C.; OLIVEIRA, C.R. O comportamento como indicador do bem-estar de vacas leiteiras confinadas e semi-confinadas. In: ENCONTRO ANUAL DE ETOLOGIA, 26. Poços de Caldas: SBET, 13-16, nov. 2008. **Anais...** CD-Rom.

SANTOS, C.A.J., RIET-CORREA, F., DANTAS, A.F.M., BARROS, S.S., MOLYNEUX, R.J., MEDEIROS, R.M.T., SILVA, D.M., OLIVEIRA, O.F. Toxic hepatopathy in sheep associated with the ingestion of the legume *Tephrosia cinerea*. **Journal Veterinary Diagnosis Investigation**, v.19, n.6, p.19:690-694, 2007. <http://lib.bioinfo.pl/paper:17998559>

SANTOS, M.V. Como o estresse da vaca leiteira afeta o manejo de ordenha, 2005. **MilkPoint**. <http://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/qualidade-do-leite/como-o-estresse-da-vaca-leiteira-afeta-o-manejo-de-ordenha-23439n.aspx> Acesso em 27/03/2012.

SCHAKE, L.M.; RIGGS, J.K. Activities of beef calves reared in confinement. **Internal Journal of Animal Science**, v.31, p.414-416, 1970.

SCHALM, O.W., NORLANDER, D.O. Experimental and observations leading to development of the California Mastitis Test. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.139, p.199-204, 1957.

SHEBAITA, M.K.; YOUSRI, R.M.; PFAU, A. Water economy and water pool in animals under heat stress. **Internal Journal of Animal Science**, v.7, p.235-240, 1992.

SILANIKOVE, J. Effects of water scarcity and hot environment on appetite and digestion in ruminants: a review. **Livestock Production Science**, v.30, n.6, p.175-194, 1992.

SILANIKOVE, N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. **Livestock Production Science**, v.67, p.1-18, 2000.

SILVA, E.B.; FIORAVANTI, M.C.S.; SILVA, L.A.F.; ARAÚJO, E.G.; MENEZES, L.B.; MIGUEL, M.P.; VIEIRA, D. Característica leucocitária, relação albumina/globulina, proteína plasmática e fibrinogênio de bovinos da raça Nelore, confinados e terminados a pasto. **Ciência Rural**, v.38, n.8, p.2191-2196, 2008.
<http://www.scielo.br/pdf/cr/v38n8/a16v38n8.pdf>

SILVEIRA, N.C.A.C.; MACHADO FILHO, L.C.P.; HÖTZEL, M.J. Efeito da massagem do úbere ao final da ordenha no leite residual e na ocorrência de mastite em vacas leiteiras. **Biotemas**, v.22, n.1, p.129-134, 2009.
<http://www.biotemas.ufsc.br/volumes/pdf/volume221/pdf129a134.pdf>

SKARZYNSKI, D.J.; OKUDA, K. Sensitivity of bovine corpora lutea to prostaglandin F₂alpha is dependent on progesterone, oxytocin, and prostaglandins. **Biology Reproduction**, v.60, p.1292-1298, 1999. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10330083>

SMITH, B.P. **Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais**. 3º ed, São Paulo: Manole, 2006.

SOUZA, R. M. Avaliação da função hepática e do lipidograma no período puerperal e pós-puerperal e suas inter-relações com os distúrbios reprodutivos de fêmeas bovinas da raça Holandesa, criadas no Estado de São Paulo. **192f. II. Dissertação (mestrado em Medicina Veterinária)** Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. São Paulo. 2005.

SOUZA, R. M. Perfil bioquímico sérico de bovinos das raças Gir, Holandesa e Girolanda, criados no Estado de São Paulo - influência de fatores de variabilidade etários e sexuais. 1997. 168 p. **Tese (doutorado)** - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

SOUZA, R.M.; BIRGEL JUNIOR, E.H.; AYRES, M.C.C.; BIRGEL, E.H. Influência dos fatores raciais na função hepática de bovinos da raça Holandesa e Jersey. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.41, n.5, p.306-3012, 2004.
<http://www.scielo.br/pdf/bjvras/v41n5/25254.pdf>

SPEICHER, J.A.; TUCKER, H.A.; ASHLEY, R.W. Production responses of cows to recombinantly derived bovine somatotropin and to frequency of milking. **Journal Dairy Science**, v.77, p.2509-2517, 1994.

SPORRI, H.; STUNZI, H. **Fisiopatologia veterinária**. Espanha: Acríbia, p. 25-31, 1977.

SRIKANDAKUMAR, A.; JOHNSON, E.H. Effect of heat stress on milk production, rectal temperature, respiratory rate and blood chemistry in Holstein, Jersey and Australian Milking Zebu cows. **Tropical Animal Health and Production**, v.36, p.685-692, 2004. <http://springer.com/article/10.1023%2FB%3ATROP.0000042868.76914.a9?LI=true>

STEFANON, B.; COLITTI, M.; GABAI, G. Mammary apoptosis and lactation persistency in dairy animals. **Journal of Dairy Research**, v.69, p.37-52, 2002.

STELWAGEN, K. Effect of milking frequency on mammary functioning and shape of the lactation curve. **Journal Dairy Science**, v.84, p.204-211, 2001.

STRICKLIN, W.R.; KAUTZ-SCANAVY, C.C. The role of behavior in cattle production: a review of research. **Applied Animal Ethology**, v.11, p.359-390, 1984.

SYME, G.J.; SYME L.A. Social structure in farm animals. **Elsevier**, Amsterdam. 200p, 1979.

SÚVA, J; CAISOVÁ, D; STAJNER, A. Modification of fat and carbohydrate metabolism by neurohypophyseal hormones. III. Effect of oxytocin on non-esterified fatty acid, glucose, triglyceride and cholesterol levels in rat serum. *Endokrinologie* 76(3):333-9, 1980.

TAKAYANAGI, Y.; KASAHARA, Y.; ONAKA, T.; TAKAHASHI, N.; KAWADA, T.; NISHIMORI, K. Oxytocin receptor-deficient mice developed late-onset obesity. **Neuroreport**, v.19, p.951-955, 2008. Disponível em: http://journals.lww.com/neuroreport/Abstract/2008/06110/Oxytocin_receptor_deficient_mice_developed.10.aspx

TANCIN, V.; KRAETZL, W.D.; SCHAMS, D.; BRUCKMAIER, R.M. The effects of conditioning to suckling, milking and of calf presence on the release of oxytocin in dairy cows. **Applied Animal Behaviour Science**, v.72, p.235-246, 2001.

THOMAS, T.J.; WEARY, D.M.; APPLEBY, M.C. Newborn and 5-week-old calves vocalize in response to milk deprivation. **Applied Animal Behaviour Science**, v.74, p.165-173, 2001.

TIAN, S.Z.; CHANG, C.J.; CHIANG, C.C. Comparison of morphology, viability, and function between blood and milk neutrophils from peak lactating goats. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.69, p.39-45, 2005.

TOMIZAWA K, IGA N, LU YF, MORIWAKI A, MATSUSHITA M, LI ST, MIYAMOTO O, ITANO T, MATSUI H. Oxytocin improves long-lasting spatial memory during motherhood through MAP kinase cascade. **Nature Reviews Neuroscience**.; 6: 384-390, 2003. <http://www.nature.com/neuro/journal/v6/n4/full/nn1023.html>

ULRICH-LAI, Y.M, HERMAN, J. Neural regulation of endocrine and autonomic stress response. **Nature Reviews – Neuroscience**, v.10, p. 307-409, 2009

UVNAS-MOBERG, K. Oxytocin may mediate the benefits of positive social interaction and emotions, **Psychoneuroendocrinology**, v.23, p.819–835, 1998.

VAARST, M.; ALBAN, L.; MOGENSEN, L.; MILAN, S.; THAMSBORG, E.S.K. Health and welfare in Danish dairy cattle in the transition to organic production: Problems, priorities and perspectives. **Journal of Agricultural Environmental Ethics**, v.14, p 367-390, 2001.

VAN AMBURGH, M.E.; GALTON, D.M.; BAUMAN, D.E.; EVERETT, R.E. Management and economics of extended calving intervals with use of bovine somatotropin. **Livestock Prod. Science**, v.50, p.15-28, 1997.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Cornell:Ithaca, 476p, 1994.

VANDEN, A.M.; GEELLEN, M.J.; WENSING, T.H.; WENTINK, G.H.; KLOOSTER, V. Higher postpartum hepatic triacylglycerol concentration in dairy cows with free rather than restricted access to feed during dry period are associated with lower activities of hepatic glycerolphosphate acyl transferase. **Journal of Nutrition**, v.126, p.76-85, 1996.

VASQUEZ, A.E.F.; HERRERA, D.A. Concentração plasmática de cortisol, ureia, cálcio e fósforo em vacas de corte mantidas a pasto suplementadas com levedura de cromo durante a estação de monta. **Ciência Rural**, v.33, n.4, p.743-747, 2003. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782003000400025

WAGNON, K.A.; LOY, R.G.; ROLLINS, W.C.; CARROLL, F.D. Social dominance in a herd of Angus, Hereford and Shorthorn cows. **Animal Behaviour**, v.14, p.474-479, 1966.

WAIBLINGER, S.; KNIERIM, U., WINCKLER, C. The Development of an Epidemiologically Based On-Farm Welfare Assessment System for use with Dairy Cows. *Acta Agric. Scand., Sect. A*, **Animal Science**, supplement 30, p.73–77, 2001.

WAIBLINGER, S.; MENKE, C.; KORFF, J.; BUCHER, A. Previous handling and gentle interactions affect behaviour and heart rate of dairy cows during a veterinary procedure. **Applied Animal Behaviour Science**, v.85, p.31-42, 2004.

WALSH, J.P. Milk secretion in machine-milked and suckled cows. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, v.13, p.77-89, 1974.

WATTIAUX, M.A. Principles of milking. Babcock Institute for International Dairy Research and Development, University of Wisconsin-Madison. Cap. 21, p.81-84, 2011. Disponível em: http://www.docstoc.com/docs/108761729/22_-THE-MILKING-MACHINE. Acesso em: 21 jan. 2013.

WATTS, J.M.; STOOKEY, J.M. Vocal behaviour in cattle: the animal's commentary on its biological processes and welfare. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 67, p.15-33, 2000.

WEARY, D.M.; HUZZEY, J.M.; VON KEYSERLINGK, M.A.G. BOARD-INVITED REVIEW: Using behavior to predict and identify ill health in animals. **Journal Animal Science**, v.87, p.770-777, 2009.

WEEKES, T.E.C. Hormonal control of glucose metabolism. In: Tsuda, t., Sasaki, Y., Kawashima, R. Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RUMINANT PHYSIOLOGY, 7, 1989, Sendai, Japan. *Proceedings...* San Diego: **Academic Press**, p.183-200, 1991.

WEISS, D.J.; PERMAN, V.P. Assessment of the hematopoietic system in ruminants. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v.8, n.2, p.411-429, 1992.

WINDLE, R.J.; KERSHAW, Y.M.; SHANKS, N.; WOOD, S.A.; LIGHTMAN, S.L.; INGRAM, C.D. Oxytocin attenuates stress-induced c-fos mRNA expression in specific forebrain regions associated with modulation of hypothalamic–pituitary–adrenal activity. **Journal of Neuroscience**, v.24, p.2974–2982, 2004.

WINDLE, R.J.; SHANKS, N.; LIGHTMAN, S.L.; INGRAM, C.D. Central oxytocin administration reduces stress-induced corticosterone release and anxiety behavior in rats. **Endocrinology**, v.138, p.2829–2834, 1997.

WINDSCHNURER, I.; BARTH, K.; WAIBLINGER, S. Can stroking during milking decrease avoidance distances of cows towards humans? **Animal Welfare**, v.18, p.507-513, 2009.

WITTWER, F. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: González, F. H. D., Barcellos, J. O., Ospina, H., Ribeiro, L. A. O. (Eds.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.

WITTWER, F. Empleo de los perfiles metabólicos em El diagnóstico de desbalances metabólico nutricionales em el ganado. **Buiatria**, v.2, n.1, p. 16-20, 1995.

WU, W.; NATHANIELSZ, P.W. Changes in oxytocin receptor messenger RNA in the endometrium, myometrium, mesometrium, and cervix of sheep in late gestation and during spontaneous and cortisol-induced labor. **Journal of the Society for Gynecologic Investigation**, v.1, p.191-196, 1994.

YOSHIDA, C.; NAKAO, T. Response of plasma cortisol and progesterone after ACTH challenge in ovariectomized lactating dairy cows. **Journal of Reproduction and Development**, v.51, p.99-107, 2005.

YOUNG, L.J.; PITKOW, L.J.; FERGUSON, J.N. Neuropeptides and social behavior: animal models relevant to autism. **Molecular Psychiatry**, v.7, n.2, p.38–39, 2002.

YUNES, M.C. Efeito da hierarquia social na produção, na reprodução e na interação humano-animal de vacas leiteiras. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, 93p, 2001.

ZAFALON, L.F.; NADER FILHO, A.; AMARAL, L.A.; OLIVEIRA, J.V.; RESENDE, F.D. Alterações da composição e da produção de leite oriundo de quartos mamários de vacas com e sem mastite subclínica de acordo com o estágio e o número de lactações. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, n.4, p.419-426, 2005. Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v72_4/zafalon.PDF. Acesso em: 21 jan. 2013.

ZANELLA, A.J.X. Fatores que põe em risco o bem estar de suínos ao ar livre. **Anais do Simpósio sobre Sistema Intensivo de Suínos Criados Ao Ar Livre – SISCAL** (p. 157-167). Concórdia, Brasil: EMBRAPA, 1996.

ZANINE, A.M.; SANTOS, E.M.; PARENTE, H.N.; FERREIRA, D.J.; CECON, P.R. Hábito de pastejo de vacas lactantes Holandês x Zebu em pastagens de *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria decumbens*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.1, p.175-181, 2007.

ZHANG, G.; CAI, D. Circadian intervention of obesity development via resting stage feeding manipulation or oxytocin treatment. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v.301, p.1004- 1012, 2011.
<http://ajpendo.physiology.org/content/301/5/E1004.full>

ZOCCAL, R.R.; CARNEIRO, A.V. Uma análise conjuntural da produção de leite brasileira. **Panorama do leite on line**, v.2, n.19, 2008.
<http://www.cnpqi.embrapa.br/panorama/conjuntura19.html>

6. APENDICE

6.1. Ficha de Avaliação das Condições de Produção

1. CADASTRO DA PROPRIEDADE

Data:	Produtor nº:
Nome da propriedade:	Telefone:
Proprietário:	Cidade:
Contato:	Celular:
e-mail:	Finalidade:

2. HISTÓRICO DA PRODUÇÃO

Produção de leite/dia:	
Nº de animais no rebanho:	Nº de vacas:
Nº de vacas em lactação:	Nº de vacas na linha de ordenha:
Bezerros nascidos no ano:	Bezerros desmamados:

3. MANEJO DE ORDENHA

Tipo de ordenha	() Manual	Obs:
	() Mecânica () móvel balde/ latão ao pé () canalizada em estábulo () balde ao pé em fosso () canalizada em fosso	
Funcionários na ordenha:		
Número de ordenhas/dia:		
Horário da(s) ordenha(s):		
Linha de ordenha () sim () não		
Ordem de ordenha dos animais/lotos:		
Teste da caneca () sim () não CMT () sim () não Frequência:		
Os bezerros tem acesso a sala de ordenha () sim () não		
Tem diferença no(s) horário(s) no final de semana/quais:		
Tempo de permanência total:		
Pré-dipping () sim () não		
Todos os animais () sim () não Sempre () sim () não		
Secagem () sim () não Papel toalha () sim () não		
Pós-dipping () sim () não		
Todos os animais () sim () não Sempre () sim () não		

4. INFRA-ESTRUTURA:

Confinado ()	Semi-confinado ()	Extensivo ()
Curral de espera sim () não ()		
Dimensões: () pequeno () médio () grande		
Sol () sim () não		
Tempo de permanência:		
Recebe suplemento () sim () não		
Piso () limpo () sujo () muito sujo		
Higiene adequada () sim () não		
Obs:		

<p>Sala de ordenha</p> <p>Construção () alvenaria () madeira () ferro Outros:</p> <p>Pé-direito () baixo – até 2 m () médio - até 4 m () alto – acima de 4 m</p> <p>Piso () terra batida () cimento Outros:</p> <p>Condições () limpo () sujo () muito sujo</p> <p>Seco () Úmido ()</p> <p>Limpo () sim () não</p> <p>Ventilação:</p> <p>Sol:</p> <p>Higiene:</p> <p>Obs:</p>
<p>Curral pós-ordenha</p> <p>Construção () alvenaria () madeira () ferro Outros:</p> <p>Piso () terra batida () cimento Outros:</p> <p>Condições () limpo () sujo () muito sujo</p> <p>Seco () Úmido ()</p> <p>Limpo () sim () não</p> <p>Ventilação:</p> <p>Sol:</p> <p>Higiene:</p> <p>Obs:</p>
<p>Destino e drenagem de resíduos da sala de ordenha:</p>
<p>Água</p> <p>Fonte:</p> <p>Armazenamento:</p> <p>Tratada () sim () não</p>

5. VACAS

<p>Raça:</p>
<p>Animais antes da ordenha () limpos () sujos () muito sujos</p>
<p>Úbere antes da ordenha () limpos () sujos () muito sujos</p>
<p>Tetos () pequenos () médios () grandes</p>
<p>Boa conformação () sim () não</p>
<p>Lesões () sim () não</p> <p>() cortes () vesículas () hiperqueratose () edema () outros</p>
<p>Quartos afuncionais () sim () não</p>
<p>Aplicação de OT durante a ordenha () sim () não</p>

6. ORDENHADORES

<p>Número de ordenhadores:</p>	
<p>Funções específicas:</p>	
<p>É fixo na ordenha () sim () não</p>	<p>Quanto tempo:</p>
<p>Recebeu treinamento () sim () não</p>	
<p>Obs:</p>	
<p>Uniforme () sim () não</p>	<p>() limpo () sujo () muito sujo</p>
<p>Vestimenta completa () sim () não</p>	<p>() limpo () sujo () muito sujo</p>
<p>Usa luvas () sim () não</p>	
<p>Mãos () limpas () sujas () muito sujas</p>	

Unhas cortadas e limpas () sim () não
Ferimentos () sim () não
Lava as mãos antes da ordenha () sim () não
Seca () sim () não () vestimenta () papel toalha
Obs:

7. SANIDADE DO REBANHO

Estado geral () bom () regular () ruim
Escore de condição corporal médio:
Enfermidades podais () sim () não Quantos:
Histórico de enfermidades reprodutivas () sim () não Distocias () sim () não Retenção de placenta () sim () não Metrite () sim () não Abortos () sim () não Repetição de cios () sim () não
Uso de hormônios ou programas de indução de cio
Histórico de disfunções digestivas:
Histórico de mortalidade e causas de descarte de adultos: Causas:
<i>Vacinas</i> Raiva () Brucelose () Carbúnculo () Leptospirose () IBR () Mastite () Exames de Brucelose e Tuberculose () sim () não Último realizado:
<i>Vermífugos</i> Produto: Frequência:
<i>Controle de Carrapatos</i> Produto: Frequência: Forma de aplicação: Resultado:
Observa o rebanho diariamente () sim () não Quando? _____ Como? _____ Acha que é possível evita-las? _____

8. MANEJO NUTRICIONAL

Alimentos fornecidos: () pastagem () capineira () silagem () fenação () ração/concentrado () cevada () outro(s), qual(is) _____
Exceto a pastagem como são fornecidos: _____ _____
Quanto tempo em média os animais ficam na pastagem? Suplementação mineral () sim () não Como é fornecido:

9. EQUIPAMENTOS

Antes da ordenha <input type="checkbox"/> limpos <input type="checkbox"/> sujos <input type="checkbox"/> muito sujos
Falhas de higiene durante a ordenha <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não
Especificar:
As teteiras são desinfetadas entre as ordenhas <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não
A limpeza ocorre logo após a ordenha <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não
Deslizamento/queda de teteiras excessivamente <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não
Estado de conservação
Conjunto de ordenha <input type="checkbox"/> bom <input type="checkbox"/> regular <input type="checkbox"/> ruim
Pulsadores <input type="checkbox"/> bom <input type="checkbox"/> regular <input type="checkbox"/> ruim
Mangueiras <input type="checkbox"/> bom <input type="checkbox"/> regular <input type="checkbox"/> ruim
Tanque de resfriamento <input type="checkbox"/> bom <input type="checkbox"/> regular <input type="checkbox"/> ruim

6.2. Formulário de avaliação de comportamento, funções fisiológicas e produção

Nº	Identf	Vocalização		Defecação		Micção		Reatividade			TPS (min)		TO (min)		Produção	Residual	D. Fuga	
		Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não	I	II	III	Início	Fim	Início	Fim	(kg ou L)	(kg ou L)	(metros)	
1																		
2																		
3																		
4																		
5																		
6																		
7																		
8																		
9																		
10																		
11																		
12																		

Reatividade: I- sem movimentação/ II- movimentando os posteriores, levantando até 15 cm do solo/ III- movimentando os posteriores, levantando em direção ao ordenhador

TPS: tempo de permanência na sala, da entrada da sala a saída após ordenha; TO: tempo de ordenha, fixação das teteiras até final da saída do leite no copo coletor