

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL  
PROGRAMA DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E  
HEMATOLÓGICAS EM VACAS NELORE SUBMETIDAS À  
PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM  
TEMPO FIXO**

*CHANGES IN BEHAVIOUR AND HEMATOLOGICAL  
PARAMETERS IN NELLORE COWS SUBMITTED A FIXED  
TIME ARTIFICIAL INSEMINATION*

**Paola Moretti Rueda**

CAMPO GRANDE  
MATO GROSSO DO SUL - BRASIL  
FEVEREIRO DE 2009

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL**  
**PROGRAMA DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E**  
**HEMATOLÓGICAS EM VACAS NELORE SUBMETIDAS**  
**À PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM**  
**TEMPO FIXO**

*CHANGES IN BEHAVIOUR AND HEMATOLOGICAL*  
*PARAMETERS IN NELLORE COWS SUBMITTED A FIXED*  
*TIME ARTIFICIAL INSEMINATION*

**Paola Moretti Rueda**

**Orientadora: Profa. Dra. Eliane Vianna da Costa e Silva**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de concentração: Produção Animal.

CAMPO GRANDE  
MATO GROSSO DO SUL - BRASIL  
FEVEREIRO DE 2009

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(Coordenadoria de Biblioteca Central – UFMS, Campo Grande, MS, Brasil)

Rueda, Paola Moretti.

R918a Alterações comportamentais e hematológicas em vacas Nelore submetidas à protocolo de inseminação artificial em tempo fixo / Paola Moretti Rueda. -- Campo Grande, MS, 2009.  
53 f. ; 30 cm.

Orientador: Eliane Vianna da Costa e Silva.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

1. Bovino de corte – Reprodução. 2. Bovino de corte – Inseminação artificial. 3. Hematologia veterinária. I. Silva, Eliane Vianna da Costa e. II. Título.

CDD (22) – 636.208245

**Paola Moretti Rueda**

"Alterações comportamentais e hematológicas em vacas nelore submetidas à protocolo de inseminação artificial em tempo fixo"

"Changes in behaviour and hematological parameters in Nellore cows submitted a fixed time artificial insemination"

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Produção Animal

APROVADA: 05/02/2009



Dra. Eliane Vianna da Costa e Silva



Dra. Carmem Estefânia Serra Neto Zúccari



Dr. Mateus José Rodrigues Paranhos da Costa

Não se mede o valor de um homem pelas suas roupas ou pelos bens que possui, o verdadeiro valor do homem é o seu caráter, suas idéias e a nobreza dos seus ideais.

*Charles Chaplin*

Aos animais, pois sem eles não existiria razão para meu trabalho,  
Aos meus pais Fátima e Rueda pelo carinho e educação  
E a minha irmã Bianca pela companhia todos estes anos.

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

À Deus.....

À minha orientadora Eliane Vianna da Costa e Silva pelos ensinamentos durante todos estes anos, não só do referencial científico, mas de como ser justo, ético, e por acreditar que eu pudesse realizar o mestrado;

À professora Jôse, pois sem sua ajuda a parte hematológica do trabalho não seria possível, e por me ensinar a amar e respeitar os animais ainda mais do que eu já amava e respeitava;

À professora Estefânia por suas correções sempre tão precisas que me ajudaram muito nestes anos;

A todos os demais professores que de uma forma ou outra ajudaram na minha formação profissional e pessoal;

A todos os colegas de mestrado e ao pessoal do grupo, em especial Daniele, Gabriela e Lívia que me ajudaram muito na realização deste trabalho;

Ao pessoal dos laboratórios: Seu Luiz, Ludomir e o Sandro pela ajuda;

Aos amigos Denise, Armando (que me hospedaram dias e dias em sua casa), Ganen, Michelle e Leonardo, com os quais sempre pude contar nas horas em que precisei e que sempre me deram apoio, não tenham dúvidas que Campo Grande foi mais colorida com a ajuda de vocês;

A todos os outros amigos que se foram ou que ficaram pelos caminhos da vida;

Ao Flok's que por três anos dividiu a casa comigo, me trouxe muitas alegrias e continuará trazendo, e que escutou todas as minhas apresentações sem reclamar, rrsrs;

Às fazendas que nos ajudaram com alojamento, alimentação, animais, funcionários sem elas a realização deste trabalho seria impossível;

Ao apoio financeiro e bolsa recebidos pelo FUNDECT/CAPES;

E a todas as pessoas que de uma forma ou outra ajudaram e continuarão ajudando na minha vida;

À vida por ser tão bela e permitir que eu possa fazer o que amo!

**ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E HEMATOLÓGICAS EM VACAS  
NELORE SUBMETIDAS À PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM  
TEMPO FIXO**

**RESUMO**

Foram avaliadas 155 vacas da raça Nelore primíparas com bezerro ao pé, submetidas a quatro manejos sucessivos no curral durante um protocolo de IATF. Realizou-se leucograma e volume globular médio de 21 vacas amostradas ao acaso. A reatividade foi registrada em 155 vacas durante os manejos por meio de escores visuais e velocidade de fuga, ainda foi observado a frequência de ações utilizadas pelos funcionários, uso da voz pelos mesmos e resistência dos animais ao manejo. O perfil hematológico e os registros comportamentais foram analisados ao longo do protocolo pelo teste de *Friedman*, realizou-se ainda regressão logística para avaliar quais tipos celulares estariam influenciando a taxa de gestação e o teste de *Wilcoxon* para averiguar diferenças entre vacas gestantes e não gestantes. Observou-se alterações nos linfócitos, neutrófilos no decorrer do protocolo, a análise de regressão logística mostrou que o maior valor absoluto de eosinófilos aumentou a probabilidade de gestação, evidenciando que o estresse gerado por manejos consecutivos dificulta a gestação. Houve também variação dos escores de reatividade ao longo do protocolo sendo que estes aumentaram a partir do primeiro dia, demonstrando um aumento do estresse.

**Palavras-chave:** gado de corte, temperamento, taxa de gestação, hematologia



*CHANGES IN BEHAVIOUR AND HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN NELLORE COWS  
SUBMITTED TO A FIXED TIME ARTIFICIAL INSEMINATION*

**ABSTRACT**

*We evaluated 155 Nelore lactating primiparous cows submitted to successive handlings in the corral during a FTAI protocol which lasted eleven days with four departures to the corral (d0 - application of the intra-vaginal implant device + oestradiol benzoate; d7 - prostaglandin; d9 - implant removal + ECP + shang; d11 - FTAI). Reactivity was registered during the handling through visual scores and flight speed. The frequency of resources used by the employees, use of the voice for the same ones and animal resistance to the handling were observed. We also performed leucogram and medium globular volume of 21 cows randomly sampled. The hematological profile and the behavioral registrations were analyzed along the protocol by Friedman's test. We also executed logistic regression to evaluate which cellular types would be influencing the pregnancy rates and Wilcoxon test to investigate differences among pregnant and non pregnant cows. An increase in white cells was observed in the elapsing of the protocol. The regression logistic analysis showed that the largest absolute value of eosinophils increased the gestation probability, evidencing that the stress generated by consecutive handlings hinders the pregnancy. There was also variation of the reactivity scores along the protocol and these increased starting from the first day, demonstrating an increase of the stress.*

**keywords:** *beef cattle, temperament, pregnancy rate, hematology*

## SUMÁRIO

	“Páginas”
1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1 Fisiologia e endocrinologia.....	11
2.2 Fisiologia do medo.....	12
2.3 Comportamento inato.....	13
2.4 Comportamento aprendido.....	13
2.5 Reações dos animais frente ao medo.....	15
2.6 Reatividade em bovinos.....	16
2.7 Conceito de estresse.....	21
2.7.1 Estresse e reprodução.....	22
2.7.2 Estresse e hematologia.....	23
2.8 Inseminação artificial em tempo fixo.....	26
3 REFERÊNCIAS.....	27
ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS DE FÊMEAS BOVINAS SUBMETIDAS À MANEJOS SECESSIVOS DURANTE UM PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF).....	32
RESUMO.....	32
ABSTRACT.....	32
INTRODUÇÃO.....	33
MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
CONCLUSÕES.....	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
REATIVIDADE DE FÊMEAS BOVINAS SUBMETIDAS À MANEJOS SUCESSIVOS DURANTE UM PROGRAMAS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO .....	43
RESUMO.....	43
ABSTRACT.....	43
INTRODUÇÃO.....	44
MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
CONCLUSÕES.....	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

## 1. INTRODUÇÃO

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) tem sido cada vez mais utilizada, mas esta ferramenta do manejo reprodutivo intensifica a interação humano-animal, esta proximidade pode ser um estímulo positivo ou negativo dependendo da qualidade do manejo implementado, fazendo com que o temperamento dos animais tenha cada vez mais importância neste processo.

Um dos componentes do temperamento é o medo e este gera efeitos negativos sobre a saúde e a produção animal (GRANDIN e DEESING, 1998). Burrow (1997) definiu temperamento como a resposta comportamental dos animais frente ao manejo humano. Estas respostas podem ir da imobilidade (*freezing*) até a agressão. Nos protocolos de IATF os animais são levados ao curral várias vezes em um curto espaço de tempo, se o manejo ou o temperamento dos animais não forem adequados, seus resultados podem ser prejudicados.

É inevitável a realização de algumas práticas que estimulam negativamente o animal durante sua vida, tais como vacinação, marcação e castração. Porém, durante estes manejos, várias ações humanas que são consideradas negativas, podem ser evitadas como: elevação da voz, pancadas, utilização de ferrão. O aumento do nível de medo pelo estímulo humano pode determinar respostas o que dificultaria ainda mais o manejo dos animais: aumentando distância de fuga e respostas agressivas.

O estresse, tanto físico quanto emocional, é mediado pelo efeito da adrenalina e corticóides (JAIN, 1993). As principais respostas ao estresse são mediadas pela adrenalina e cortisol estes dois hormônios tem influência direta sobre as células hematológicas, pois se verifica uma alteração no quadro leucocitário, minutos após a secreção da primeira. Enquanto que as alterações decorrentes da ação dos corticosteróides só se manifestam nas células hematológicas poucas horas após o estresse sofrido (FELDMAN *et al.*, 2000).

Existe pouca informação sobre a influência da reatividade na reprodução de bovinos. O objetivo deste trabalho foi verificar se há variação da reatividade dos animais submetidos a manejos sucessivos em decorrência do protocolo de IATF e avaliar a relação entre a reatividade destas fêmeas e o padrão hematológico com a taxa de gestação obtida em programas de IATF.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. FISIOLOGIA E ENDOCRINOLOGIA

Os sistemas endócrino e nervoso são as duas principais formas de coordenação das funções de vários órgãos e estão funcionalmente integrados. O sistema nervoso controla principalmente a motilidade muscular, as glândulas exócrinas, diferentemente o sistema endócrino é regulador da taxa e da qualidade das reações metabólicas (DUKES, 2006). A integração destes dois sistemas vai desencadear todas as reações dos animais e qualquer desarranjo nesta sincronia vai gerar danos ao organismo.

O sistema nervoso é capaz de desencadear reações muito rápidas e locais, o sistema endócrino é responsável por reações mais lentas. A diferença de velocidade de reação dos dois sistemas é decorrente de que o sistema nervoso age com conexões diretas (sinais elétricos e químicos) entre Sistema Nervoso Central (SNC) e as células no local de ação. Por outro lado o sistema endócrino age por sinais químicos distribuídos para todas as células do corpo através do líquido que as circunda (DUKES, 2006; CARLSON, 2002; McDONALD'S, 2003).

Segundo Dukes (2006), o sistema endócrino é composto por nove glândulas endócrinas (pineal, hipotálamo, hipófise, tireóide, paratireóide, pâncreas, supra-renais, testículos ou ovários) e quatro órgãos (coração, intestino, rim e placenta).

O hipotálamo é o local no cérebro onde o sistema endócrino faz conexão com o sistema nervoso. Suas funções são a regulação do sistema endócrino, da temperatura corporal, do apetite, do comportamento sexual, das reações defensivas (medo e raiva) e dos ritmos de atividades do sistema vegetativo (DUKES, 2006).

A hipófise ou glândula pituitária divide-se em três partes sendo estas a parte distal (anterior) também chamada de adeno-hipófise, intermediária e posterior (neuro-hipófise) (DUKES, 2006; CARLSON, 2002; McDONALD'S, 2003).

A hipófise anterior produz dois hormônios extremamente importantes na reprodução o hormônio folículo estimulante (FSH) que promove o desenvolvimento dos folículos de *Graaf* no ovário e o hormônio luteinizante (LH) que é responsável por ocasionar a ovulação e a formação do corpo lúteo (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Os hormônios muitas vezes sofrem flutuações na secreção, estas podem ocorrer em questões de horas (ritmo circadiano) ou dias. O hormônio liberador de corticotropina (CRH) estimula liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) de maneira pulsátil, com um pico dentro do ritmo circadiano que ocorre nas primeiras horas da manhã, havendo uma

diminuição do ACTH ao longo do dia, o cortisol acompanha este ciclo (McDONALD'S, 2003; DUKES, 2006).

O cortisol é um hormônio glicocorticóide secretado pelo córtex da adrenal, ele exerce profundos efeitos sobre o metabolismo da glicose. A aldosterona é um outro esteróide secretado pelo córtex da adrenal é considerado um mineralocorticóide devido aos seus efeitos sobre o metabolismo de sódio (CARLSON, 2002)

Os glicocorticóides têm diversas funções no organismo: ajudam a quebrar proteínas e convertê-las em glicose, contribuem para transformar gordura em energia, aumentam o fluxo sanguíneo, eles também reduzem a sensibilidade das gônadas ao LH, o que resulta na supressão da secreção dos hormônios sexuais esteróides (BREEN e KARSCH, 2004; CARLSON, 2002).

A secreção de cortisol diminui a pulsatilidade do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) e do LH. Um aumento agudo do cortisol é suficiente para inibir a secreção do LH e da atividade neuroendócrina de ovelhas ovariectomizadas (DEBUS *et al.*, 2002; BREEN e KARSCH, 2004).

## 2.2 FISIOLOGIA DO MEDO

A expressão do medo é resultado da interação entre as experiências passadas dos animais e sua genética (BOISSY *et al.*, 2005).

Como as situações ameaçadoras requerem uma ação vigorosa, as respostas autonômicas e endócrinas que as acompanham são catabólicas; isto é, elas ajudam a mobilizar reservas energéticas do corpo. A adrenalina afeta o metabolismo de glicose, tornando os estoques de nutrientes dos músculos disponíveis para o fornecimento de energia necessária à fuga. Juntamente com a noradrenalina, aumentam o fluxo sanguíneo para os músculos e com isso aumentam os batimentos cardíacos (CARLSON, 2002).

A produção central de hormônio liberador de corticotropina (CRH) resulta em ativação de componentes periféricos do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal, conduzindo ao aumento do hormônio adenocorticotrófico (ACTH) e cortisol (RUSHEN *et al.*, 1999; ENCARNAÇÃO, 1997).

Os hormônios secretados pela medula da adrenal (adrenalina e noradrenalina) aumentam o fluxo sanguíneo para os músculos e convertem os glicogênio em glicose (CARLSON, 2002).

Os glicocorticóides servem para preparar o organismo para desafios fisiológicos ou ambientais e são importantes para a consolidação da resposta ao estresse (BREEN e KARSCH, 2004; JOCA *et al.*, 2003).

### **2.3 Comportamento Inato**

O termo adaptação pode ser utilizado em três sentidos na biologia evolutiva: descrição estrutural, processos fisiológicos e comportamentais sendo que o indivíduo mais capaz sobrevive e se reproduz, podendo também significar o processo evolutivo que conduz à formação de tal característica (BROOM e JOHNSON, 1993).

O medo inato é de suma importância na evolução dos animais, já que o processo de seleção natural privilegiou indivíduos que reagiam frente aos predadores e perigos encontrados em seu *habitat* natural da melhor forma possível, assim sobrevivendo e passando estas características aos seus filhos.

LeDoux (2000) sustentou que as emoções possuem grande valor adaptativo para o indivíduo. Porém, se emoções distintas estão associadas a diferentes funções de sobrevivência - proteção contra o perigo, alimentação, reprodução, cuidados com a prole - cada uma delas provavelmente requer sistemas cerebrais distintos não havendo assim um único sistema emocional no cérebro, mas vários.

### **2.4 Comportamento aprendido**

O aprendizado pode ser adaptativo, como no caso de animais submissos e dominantes, quando o fato de saber qual é o animal dominante é importante e persiste ao longo do tempo. Pode ocorrer um “aprendizado aversivo” ocorre quando o animal ingere alguma planta que lhe causou algum mal. O aprendizado associativo é observado quando o animal associa a comida com o ato de se alimentar e aumenta a produção de saliva (ALBRIGHT e ARAVE, 1997).

A base do condicionamento operante é que a consequência atual controla uma performance futura (ALBRIGHT e ARAVE, 1997).

O aprendizado ocorre durante toda a vida do animal, muitos estímulos e respostas têm potencial para serem memorizadas e no futuro influenciar nas funções fisiológicas e comportamentais. A memória de manejos desagradáveis torna o manejo mais difícil para humanos e mais perturbador para os animais (BROOM e JOHNSON, 1993).

Um dos processos de aprendizado com a ajuda da adaptação individual é a habituação que pode ser definida como uma diminuição da resposta individual após estímulos constantes ou repetidos (FRASER e BROOM, 1990; BROOM e JOHNSON, 1993).

Uma outra forma de aprendizado é a sensibilização que ocorre quando existe um aumento da resposta depois de repetidos estímulos ao longo do tempo (BROOM e JOHNSON, 1993; FRASER e BROOM, 1990). A sensibilização ocorre principalmente se o estímulo for nocivo ou debilitante (BROOM AND JOHNSON, 1993).

A amígdala central é particularmente importante na aprendizagem emocional aversiva. Uma vez ocorrida à aprendizagem os animais se sentirão amedrontados sempre que se depararem com esta situação. Os batimentos cardíacos e a pressão arterial aumentarão, os músculos ficaram mais tensos, as glândulas adrenais secretarão adrenalina e estarão prontos a manifestar suas respostas (CARLSON, 2002).

Os estudos relacionados ao medo condicionado normalmente consistem na exposição de um animal a um estímulo neutro – um tom sonoro ou um *flash* luminoso, ao mesmo tempo em que recebe um leve estímulo adverso. O primeiro é chamado de estímulo condicionado e o segundo de estímulo não-condicionado. Após várias exposições o animal aprende a responder ao estímulo condicionado com a mesma resposta autonômica e comportamental que aquela ao não-condicionado, mesmo que este não esteja presente (MEZZASALMA *et al.*, 2004).

Este sistema responde a eventos punitivos, estímulos novos e frustração condicionada através da supressão do comportamento operante mantido por recompensa ou, então, pela esquiva da punição (LEDOUX, 2000).

Lee *et al.* (2007), trabalhando com a associação de choque e comportamento aprendido, utilizaram bovinos com um colar no pescoço que continha um dispositivo de choque. Os animais foram colocados em um cercado com um cocho no centro, e ao redor deste foi traçado um quadrado virtual de 5x5m sem nenhuma demarcação física e quando os animais entravam nesta área o dispositivo de choque era acionado. Eles testaram o mesmo delineamento em duas oportunidades: choque associado a uma sirene e sem sirene em grupos de animais diferentes. Quando era acionado o choque com a sirene 24,5% dos animais continuavam andando em direção ao cocho, mas quando era utilizado somente o choque 80% destes continuavam caminhando ( $p < 0,05$ ). A associação entre sirene e choque estimulou o comportamento de evitação ao cocho. Isto pode mostrar que o estímulo negativo associado ao sonoro, é uma forma de condicionar os animais a uma dada ação.

Os animais são capazes de associar e memorizar situações positivas e aversivas (BADDELEY, 1999) que se divide em três etapas:

- 1) Codificação: provocada pela percepção de estímulos e que corresponderiam a aquisição desta informação.
- 2) Consolidação: armazenamento da informação
- 3) Evocação: provocado pela busca e reprodução da informação previamente armazenada

Depois das informações armazenadas os animais utilizam de sua memória para distinguir lugares, pessoas, objetos e desta forma modular o comportamento apresentado em diversas situações. Por isso é importante que regularmente os animais sejam manejados de forma positiva para diminuir ao máximo o medo ao manejo.

## 2.5 Reações dos animais frente ao medo

Segundo Grandin (1997) os animais podem apresentar as seguintes formas de estresse: psicológico ou físico. A autora ainda observou que há variações genéticas na susceptibilidade ao estresse.

As reações dos animais frente ao medo ocorrem em todas as espécies mais ou menos da mesma forma. Preferencialmente, os pesquisadores utilizam ratos nestes estudos pelo fácil manuseio e manutenção, e as informações obtidas são extrapoladas para outros animais, inclusive os humanos.

É inato um roedor evitar entrar em um recinto onde foi anteriormente submetido a um estímulo adverso o que se assemelha a um paciente que se recusa a atravessar uma ponte sobre a qual já sofreu um ataque de pânico. De forma semelhante um animal apresenta elevação da frequência cardíaca, pressão arterial e liberação de glicocorticóides quando escuta um tom sonoro, anteriormente associadas a um leve estímulo adverso, demonstrando várias alterações autonômicas características de um ataque de pânico, assim como em humanos (MEZZASALMA *et al.*, 2004).

Frente a agentes estressores os animais utilizam uma das quatro estratégias defensivas comportamentais básicas: fuga, imobilidade, ataque defensivo e submissão (BLANCHARD e BLANCHARD, 1988) o que leva a esta decisão são vários fatores como: características do ambiente (possível rota de fuga), distância do estímulo, experiência prévia com o estímulo.

Os bovinos de corte reagem, em diferentes situações, de acordo com o seu temperamento. Este pode ser definido como uma organização hormonal, nervosa e física, que desencadeia a reação dos animais frente ao medo (BOISSY e BOUISSOU, 1994).

Em situações de desconforto ou ameaça por algum estímulo (agente estressor), tanto de ambiente (frio, calor, espaço, fome, sede), social ou de manejo, o animal pode desencadear



uma resposta emocional que se manifesta por mudanças comportamentais, provocando alterações fisiológicas, denominadas genericamente estresse (GRANDIN, 2000).

Boissy *et al.* (1998) averiguaram que existem algumas substâncias de alarme na urina de bovinos que servem para avisar um perigo eminente para o grupo (já que estes animais são gregários). Além disso, observaram que animais mais estressados urinam e defecam mais que aqueles não estressados.

Existem alguns métodos de estudos em bovinos que avaliam o quanto aquela situação proposta é aversiva a eles, empiricamente medindo o medo destes animais.

Pajor *et al.* (2000) estudaram a aversão de vacas leiteiras a situações de manejo: positivas (alimentação, escovação) e negativas (bater, gritar). Os autores avaliaram o tempo necessário para os animais percorrerem um corredor de acesso ao local onde recebiam os estímulos. Os animais que receberam estímulos negativos necessitaram de mais força ( $p < 0,001$ ) e demoraram mais tempo ( $p < 0,05$ ) para chegar a área de manejo.

Em um segundo experimento, Pajor *et al.* (2000) utilizando apenas estímulos negativos (choques, gritos, batidas, torção de cauda), comuns em manejo de bovinos, comparando com um grupo controle que não recebia estas ações, observaram que os animais que receberam choque andavam mais lentamente do que aqueles estimulados pelo grito, torção de cauda e batidas que não diferiram do controle ( $p < 0,05$ ). O que pode ter gerado este tipo de comportamento foi uma associação entre o local de manejo e estímulos negativos ocorridos anteriormente neste local. Assim, compreendendo melhor o medo nos bovinos pode-se implantar práticas de manejo que facilitem o deslocamento destes animais.

Bristow e Holmes (2007) estudaram o comportamento de ruminação em bovinos com alto e baixo nível de cortisol no sangue, observaram correlação de  $-0,85$  ( $p = 0,004$ ) entre estas características, esta correlação indicaria que animais mais estressados ruminavam menos tempo, a ruminação pode, então, ser utilizada como um indicador de estresse.

O medo dos animais frente às pessoas gera perdas de produtividade, injúrias tanto nos animais quanto nas pessoas que trabalham com estes e a diminuição do bem-estar animal e humano. Um bom manejo é importante para reduzir o medo dos animais (RUSHEN *et al.*, 1999).

## **2.6 REATIVIDADE EM BOVINOS**

Burrow (1997) definiu temperamento como resposta comportamental dos animais frente manuseio pelos homens, estas respostas podem ir da imobilidade (*freezing*) até a agressão.

O temperamento pode ser medido através de uma escala numérica (escores) que mede a reação dos bovinos durante o manejo. As escalas avaliam o quanto os animais estão agitados. Estes escores podem variar de quais e quantos parâmetros estão sendo avaliados (GRANDIN E DEESING, 1998).

Além dos escores visuais o temperamento também pode ser medido através da velocidade de fuga (saída). Esta medida se baseia na velocidade com que os animais saem da área de manejo intensivo do curral (PIOVEZAN 1998; MULLER e VON KEYSERLINGK 2006).

Medir o temperamento é um desafio sendo necessário o uso de uma metodologia que seja segura e de fácil aplicação.

Piovezan (1998) assumindo que temperamento é uma característica individual (proporcionando a oportunidade para comparação entre indivíduos) consistente em diferentes situações ao longo do tempo, afirma que também assumiremos que podem estar envolvidas nesta medida muitas outras características diferentes entre si. Assim, do ponto de vista da aplicação prática do conceito na avaliação de bovinos é provavelmente impossível encontrar uma definição única. Na verdade, o que parece acontecer na prática é que avaliamos os indivíduos considerando um ou alguns desses aspectos (de forma independente) de seu temperamento, medindo a tendência dele ser agressivo, ágil, atento, curioso, dócil, esperto, medroso, reativo, teimoso, tímido, etc. Esta tendência é caracterizada quando um animal apresenta determinados comportamentos de forma consistente (em termos de intensidade), por exemplo, ser pouco ou muito agressivo. Este autor considera mais adequado utilizar o termo reatividade (qualidade ou estado daquele que protesta, luta), ao invés de temperamento, um termo muito abrangente, no qual as medidas de reatividade compõem o temperamento num sentido mais amplo, incluindo características da “personalidade” como mansidão (qualidade ou estado daquele que possui gênio brando, sereno) e docilidade (qualidade ou caráter daquele que aprende com facilidade, que é facilmente conduzido). Segundo ele deve-se levar em consideração os termos docilidade, mansidão e temperamento para definir o perfil de um animal ideal ou indesejável.

Já há indicações de que é possível modificar a intensidade dessas reações pela seleção uma vez que tem sido observada herdabilidade moderada em diferentes raças: entre 0,17 e 0,58, dependendo do escore utilizado e da raça (BURROW *et al.*, 1988; MORRIS *et al.*, 1994, BURROW, 2001). No Brasil, Piovezan (1998) encontrou, em rebanho com quatro raças (Nelore, Guzerá, Gir e Caracu) uma herdabilidade de 0,34 para um escore composto, baseado nas atividades dos animais durante a pesagem, e 0,35 para velocidade de fuga.

Burrow e Prayaga (2004) observaram que animais que exibiam uma velocidade de fuga mais baixa, tinham uma taxa de crescimento maior, o que sugere que a seleção para crescimento pode imprimir uma seleção para temperamento também.

Vacas leiteiras primíparas têm demonstrações claras de medo quando submetidas pela primeira vez à ordenha, com alguns animais ficando violentos e muitas vezes a ordenha não pode ser completada. Das e Das (2004) trabalhando com 18 novilhas leiteiras de primeira cria, mediram a reatividade durante a ordenha em vários dias após o nascimento do bezerro. Eles testaram o efeito de seções de massagem em três momentos: um mês antes do parto, em dias alternados nos últimos dois meses e em dias alternados no último trimestre de gestação. Os escores de reatividade variavam em oito níveis, de dócil à agressivo. Foi observada uma menor reatividade nos grupos que receberam massagem em relação ao controle, e o grupo que recebeu a massagem em todo o terceiro trimestre foi menos reativo (mediana = escore um) que demais (mediana = escore 2),  $p < 0,05$ .

Boissy e Le Neindre (1996) avaliaram as respostas comportamentais e fisiológicas à separação e reunião de vacas leiteiras (Frisian e Aubrac), em um grupo familiar e não familiar. Observaram que a frequência cardíaca e a concentração de cortisol das vacas reintroduzidas em rebanho não familiar foram maiores que aquelas que voltaram para ambiente familiar. Os autores observaram ainda efeito de raça nas respostas fisiológicas: os níveis de cortisol e frequência cardíaca foram mais altos em vacas Aubrac, que nas da raça Frisian podendo então esta diferença estar relacionada a um fator genético.

Vacas que foram imobilizadas com choque elétrico em uma rampa, quando foram aproximadas a uma rampa similar tiveram a frequência cardíaca e reações comportamentais relacionadas ao medo aumentadas, mesmo seis meses após o ocorrido (Pascoe, 1986 citado por WAYNERT *et al.*, 1999).

A habituação de ovinos a um protocolo de alimentação levou a uma diminuição da frequência cardíaca e da movimentação dos animais. A diminuição dos movimentos não necessariamente significa uma diminuição do medo, e em alguns animais isto pode significar um medo extremamente alto (ROMEYER e BOUISSOU, 1992).

Vacas quando expostas ao som de humanos tocando o gado associado com o som de metal batendo em metal apresentaram frequência cardíaca e movimentação aumentadas em comparação aos animais estimulados sem som no mesmo ambiente. Estas reações podem estar relacionadas à memória do medo e a taxa de movimentação pode indicar o nível do medo. Quando separados, o som do metal do de humanos, o metal provocou uma maior movimentação e frequência cardíaca maior (WAYNERT *et al.*, 1999).

Vacas leiteiras em ambiente familiar e não familiar apresentaram mais mugidos no ambiente não familiar ( $p < 0,05$ ), demonstrando assim que a vocalização pode ter uma associação com o medo (PRELLE *et al.*, 2004).

Segundo Watts e Stookey (1999), o estudo da vocalização dos animais pode indicar o nível de pânico e comprometimento do bem-estar. Avaliando os parâmetros acústicos da vocalização de bezeros submetidos ao processo de marcação (ferro quente). Estes mesmos autores compararam animais não marcados com animais marcados, em relação à frequência de vocalizações e a amplitude (decibéis) da mesma. Os animais marcados apresentaram menor frequência de vocalizações ( $p < 0,0001$ ), mas o padrão acústico não variou entre tratamentos ( $p > 0,05$ ). A vocalização pode funcionar como um aviso aos outros animais de algo que está acontecendo com ele como dor, medo, ansiedade, etc., mas esta hipótese ainda necessita ser mais bem estudada.

Animais com predominância de sangue europeu são menos agitados que aqueles com predominância de sangue zebuíno. A identificação desses animais pode levar a mudança nas práticas de manejo e instalações, com o objetivo de diminuir o estresse e suas conseqüências negativas sobre o bem-estar e o desempenho animal (SILVEIRA *et al.*, 2006).

Maffei *et al.* (2006) propondo uma nova metodologia utilizando um dispositivo eletrônico para medir a movimentação no tronco de contenção (1 a 9,999 pontos) em 20 segundos, correlacionaram este dispositivo com velocidade de fuga (em 1,7m) e escore de temperamento. O escore utilizado para medir a reatividade foi o seguinte:

1. Muito Dócil - Animal estático, em geral encostado na parte da frente ou de trás do brete, com movimentos de cauda ocasionais e relaxados;
2. Dócil - Animal calmo, mas não permanecendo na mesma posição por mais do que alguns segundos e com movimentos de cauda ocasionais;
3. Levemente Agressivo - Animal com deslocamentos freqüentes dentro do brete, movimentos vigorosos e abruptos, movimentos de cauda freqüentes e vigorosos e respiração audível;
4. Agressivo - Animal com deslocamentos quase contínuos dentro da balança, movimentos vigorosos e abruptos, respiração audível, mas sem presença de mugido;
5. Muito Agressivo - Animal com deslocamentos contínuos dentro da balança apresentando saltos e forçando a grade do brete com a cabeça ou posterior, movimentos de cauda contínuos e vigorosos com ocorrência de mugidos e bufar pesado.

Apesar do dispositivo ter apresentado correlação significativa com velocidade de fuga (-0,18) e escores de temperamento (0,85), este avalia apenas uma parte da reatividade que seria o deslocamento no tronco.

Para que a avaliação seja mais precisa talvez fosse necessário juntamente com o dispositivo alguma forma de avaliação que analisasse a tensão, a respiração, e outros comportamentos que estão inseridos na avaliação por escores visuais.

Segundo Silveira et al. (2006) estudos com bovinos na entrada da pista de remate, demonstraram que a reatividade e o escore de movimentação de bovinos podem ser utilizados como critério para medida do temperamento, estas variáveis apresentaram alta correlação ( $r=0,80$   $p<0,0001$ ).

Rosa (2004) trabalhando com vacas leiteiras na sala de ordenha e avaliando a reatividade destas em relação ao tipo de manejo realizado pelo retireiro (1-positivo, 2-negativo), observou correlação entre reatividade e tipo de estímulo recebido pela vaca, porém esta maior reatividade não influenciou no tempo de ordenha.

MULLER e VON KEYSERLINGK (2006) observaram a correlação entre velocidade de fuga e ganho de peso diário, encontrando uma regressão quadrática ( $R^2 = 0,14$ ,  $F_{2,56} = 4,41$ ,  $P<0,05$ ), em que animais de média reatividade obtiveram melhores índices de ganho médio diário.

Em programas de Inseminação Artificial (IA) e principalmente, na IATF a interação humano-animal fica ainda mais intensa, o que pode levar a benefícios e malefícios de acordo com a qualidade desta interação. Rueda et al. (2005) observaram a reatividade de fêmeas bovinas em protocolos de IATF segundo a metodologia: 1 = relaxado, 2 = tenso, 3= muito tenso. Verificou se correlação significativa deste escore com IATF, ainda que baixa ( $r_s = -0,1760$ ;  $p=0,0213$ ). Assim, concluíram que a condição de estresse do animal durante a aplicação do protocolo poderia diminuir sua eficiência.

Aguilar (2007), trabalhando com doadoras de embriões, observou que existe uma variação da reatividade em relação à idade dos animais, novilhas tendem a ser mais reativas que vacas, isso pode ser em decorrência de uma provável habituação das vacas aos manejos constantes do programa de transferência de embriões.

## 2.7 CONCEITO DE ESTRESSE

O estresse é um efeito ambiental sobre um indivíduo que coloca uma sobrecarga sobre o seu sistema de controle e reduz o seu *fitness*, o que envolve um aumento na mortalidade e insucesso no crescimento e reprodução (BROOM e JOHNSON, 1993).

Selye (1965) denominou ao conjunto de reações não específicas do estresse de síndrome da adaptação geral (SAG), subdividindo-a três fases:

- *Reação de alarme* - decorrente da ação da adrenalina, em que se detecta aumento da frequência cardíaca, da pressão arterial, do aporte sanguíneo, da frequência respiratória, dilatação dos brônquios, dilatação da pupila com exoftalmia e elevação do número de linfócitos;
- *Reação de resistência* - devido à hiperatividade do córtex da supra-renal uma vez que o agente agressor mantenha a sua ação, em que se observa atrofia do timo e das estruturas linfáticas, úlceras estomacais, aumento do número de glóbulos brancos e diminuição do número de eosinófilos;
- *Fase de exaustão* - em que pode ocorrer a morte do indivíduo caso os agentes agressores persistam.

No entanto, Broom e Johnson (1993) afirmam que a resposta fisiológica do estresse é menos uniforme do que a proposta pela teoria de Selye. Segundo eles, com a evolução dos métodos de análise endocrinológica observou-se que os glicocorticóides são secretados em tanto em situações estressantes quanto não estressantes como copula e caça. Um terceiro ponto com a teoria de Selye, que os leva a ponderar que o uso de glicocorticóides não seria o melhor indicador do estresse, seria que, em muitas circunstâncias, ocorre uma correlação pobre com efeitos adversos e específicos de diferentes agentes estressores, além disso, existe uma grande variação individual (BROOM AND JOHNSON, 1993).

Contudo o cortisol ainda é utilizado como um indicador de estresse em diversos trabalhos na literatura científica (BOISSY e LE NEINDRE, 1996; BRISTOW e HOLMES, 2007; FELDMAN *et al*, 2000; JAIN, 1993; DAVIS *et al*, 2008).

Alguns autores também relatam que o estresse induz no organismo do animal várias alterações fisiológicas como taquicardia e taquipnéia, desencadeadas pelo aumento das catecolaminas, cortisol e vasopressina circulantes (ENCARNAÇÃO, 1997; FELDMAN *et al.*, 2000; JAIN, 1993).

A adrenalina e a noradrenalina preparam o organismo do animal para a luta ou fuga. Estes efeitos incluem um aumento na frequência e contratilidade do coração, dilatação dos

vasos sangüíneos, aumento da pressão sangüínea, aumento da glicogenólise, dilatação das pupilas e das vias aéreas e piloereção (CUNNIGHAM, 2004; CARLSON, 2002).

A adrenalina é um hormônio produzido pela medula das glândulas adrenais (CARLSON, 2002). A determinação sérica das catecolaminas (adrenalina e noradrenalina), contudo, é tecnicamente difícil em decorrência de suas baixas concentrações, curta meia vida e alta sensibilidade. Seus níveis geralmente são estimados indiretamente através da ativação do sistema nervoso autônomo, em que são avaliadas a frequência da defecação, sudorese e as atividades cardiovasculares como pressão sanguínea e frequência cardíaca (GRANDIN e DEESING, 1998).

### 2.7.1 ESTRESSE E REPRODUÇÃO

Os efeitos do estresse prolongado sobre a função reprodutiva são mediados e estimulados por alguns hormônios liberados durante as respostas adaptativas, dentre os quais se destacam o CRH, o ACTH, opióides endógenos e o cortisol (RIVER e RIVEST, 1991). Estes hormônios atuam interferindo na secreção de mediadores necessários para a produção de esteróides sexuais e para o desencadeamento da dinâmica folicular normal. O mecanismo pelo qual o estresse agudo afeta os mecanismos fisiológicos e, por conseqüência, a reprodução, tem sido pouco estudado, em bovinos, sabe-se que envolveria a falha da liberação de LH, podendo deste modo afetar o momento da ovulação (DOBSON e SMITH, 2000; BREEN e KARSCH, 2004).

As gonadotrofinas atuam sobre as gônadas, nas fêmeas geram o crescimento folicular, maturação dos ovócitos, secreção de estrógenos pelos componentes celulares dos folículos ovarianos, ovulação, desenvolvimento do corpo lúteo e finalmente secreção de progesterona pelo corpo lúteo (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

A ação dos glicocorticóides liberados sob condições de estresse, reduzem a sensibilidade das gônadas ao LH, o que resulta na supressão dos hormônios sexuais esteróides influenciando diretamente na reprodução (CARLSON, 2002).

O aumento agudo do cortisol suprime a secreção pulsátil de LH. A diminuição da amplitude do pulso de LH, pode refletir na redução do pulso e amplitude do GnRH, ou em nível de pituitária inibir a resposta ao GnRH (BREEN e KARSCH, 2004).

O precursor imediato de todos os esteróides é a pregnenolona, que é derivada do colesterol. Há uma via comum para a síntese de vários hormônios esteróides nas supra-renais, testículos e ovários, a maioria das vias tem só uma direção (DUKES, 2006; HAFEZ e

HAFEZ, 2004). Quando o animal está sob estresse crônico ocorre à liberação do cortisol, este hormônio também utiliza o colesterol como precursor, portanto o aumento da síntese de cortisol resulta na diminuição de colesterol para a síntese de esteróide.

Um aumento agudo do cortisol foi suficiente para inibir a secreção de LH e a atividade neuroendócrina em ovelhas ovariectomizadas (DEBUS *et al.*, 2002).

Elevações contínuas nos níveis de cortisol em ovelhas ovariectomizadas afetam o hipotálamo através da inibição do GnRH, a pituitária pela interferência do GnRH na liberação do LH e FSH, e as gônadas pela alteração do efeito estimulatório das gonadotrofinas na secreção dos esteróides gonadais (BREEN e KARSCH, 2004; RIVIER e RIVEST, 1991).

### 2.7.2 ESTRESSE E HEMATOLOGIA

Como as principais respostas ao estresse são mediadas pela adrenalina e cortisol verifica-se uma mudança evidente no quadro leucocitário minutos após a secreção da primeira enquanto as alterações decorrentes da ação dos corticosteróides só se manifestam poucas horas após o estresse sofrido. Neutrofilia e ou linfocitose são esperadas devido a atividade da adrenalina (JAIN, 1993).

A adrenalina acarreta esplenocontração com conseqüente liberação de uma massa de eritrócitos, para a circulação sangüínea. Este efeito ocorre três minutos após uma descarga de adrenalina, sendo que o aumento do número de eritrócitos pode ser superior a 38% em ovinos (JAIN, 1993). Feldman *et al.* (2000) consideraram que a contração esplênica, como causa de eritrocitose relativa, ocorre principalmente em indivíduos excitáveis de espécies como a canina e a eqüina. O eqüino é considerado mais sensível, embora esta resposta possa ocorrer em todas as espécies (Kerr, 2003).

A eritropoetina é o hormônio responsável pelo estímulo da produção de eritrócitos (CAR, 2000). Vários outros hormônios entre os quais ACTH, corticosteróides e andrógenos influenciam positivamente a eritropoiese principalmente por incrementar a síntese de eritropoetina (JAIN, 1993).

Dentro dos vasos sanguíneos foram identificados dois compartimentos funcionais de neutrófilos: o *pool* marginal e o *pool* circulante. O *pool* marginal consiste de células que circulam lentamente ao longo da parede dos pequenos vasos, localizados primeiramente no baço, pulmão e região esplênica. O *pool* circulante é composto pelas células que transitam livremente no sangue (JAIN 1993).



De acordo com Graham (2000), os neutrófilos no sangue periférico (*pool* marginal) podem se mover mais lentamente que os eritrócitos e o plasma nas vênulas pós-capilares, devido às moléculas de adesão presentes nos neutrófilos e células endoteliais. Os neutrófilos que acompanham os eritrócitos e o plasma dentro do vaso sanguíneo representam o *pool* circulante, sendo desta área as células obtidas através de uma punção venosa.

A adrenalina liberada durante as várias formas de estresse agudo, físico ou emocional, promove uma neutrofilia transitória, decorrente do desvio de neutrófilos do *pool* marginal em direção ao *pool* circulante (circulação geral). Esta resposta é mediada através de efeitos  $\beta$ -adrenérgicos da adrenalina, que ocasionam a liberação de AMPc pelas células endoteliais, acarretando a redução da aderência dos neutrófilos à parede vascular (JAIN, 1993). Graham (2000) observou que esta pseudoneutrofilia, uma vez que o *pool* total de neutrófilos no sangue tenha permanecido inalterado, desencadeia um aumento médio no número de neutrófilos, duas vezes superior ao normal, durante 10 a 20 minutos.

Jain (1993) relatou que a neutrofilia é frequentemente acompanhada por linfocitose e algumas vezes por monocitose e eosinofilia. No mesmo artigo, em outro momento o autor citou que a leucocitose fisiológica, devido à ação da adrenalina, provoca uma neutrofilia transitória e ou linfocitose, e que raramente ocorre aumento no número de monócitos e eosinófilos. Graham (2000) concordou que a neutrofilia pode ser acompanhada por linfocitose, e que os outros tipos leucocitários permanecem dentro do intervalo de referência no sangue periférico. Thaylor (2000) mencionou que a leucocitose fisiológica induzida pela adrenalina, em bovinos, é caracterizada por neutrofilia com aumento do número de linfócitos e monócitos e moderada eosinopenia.

Linfocitose fisiológica transitória é observada após uma liberação acentuada de adrenalina devido ao estresse físico ou emocional. Um *pool* rapidamente acessível de linfócitos, análogos ao *pool* marginal de neutrófilos, em bovinos, estimado ser cerca de seis a dez vezes maior que no sangue circulante, poderia ser facilmente mobilizado em resposta à adrenalina. A exata localização deste *pool* é desconhecida (JAIN, 1993). O exato mecanismo da linfocitose fisiológica ainda é obscuro, mas acredita-se, que a adrenalina provoque a liberação de linfócitos do ducto torácico, ou iniba a circulação de linfócitos através de alterações nos receptores de superfície nas células endoteliais e nos linfócitos (SCHULTZE, 2000). Níveis elevados de catecolaminas induzem inicialmente (em uma hora), em animais de laboratório, à eosinofilia moderada seguida por eosinopenia em quatro horas.

Os corticosteróides liberados endogenamente em resposta ao estresse crônico, induzem a uma leucocitose típica com neutrofilia geralmente sem desvio a esquerda, associada a linfopenia e eosinopenia; em bovinos a monocitose seria um achado inconstante

(JAIN, 1993). Graham (2000) descreveu que os corticóides, liberados devido ao estresse agudo, acarretam neutrofilia média a moderada (aumento de duas a três vezes o normal dependendo da espécie animal), tipicamente sem desvio a esquerda, linfopenia, eosinopenia e monocitose.

A neutrofilia é conseqüência, primariamente, do aumento de liberação de neutrófilos pela reserva medular e da redução do egresso destes leucócitos da circulação e parcialmente do desvio de células do *pool* marginal para o *pool* circulante (JAIN, 1993). Graham (2000) concordou que a neutrofilia tem como causa principal o aumento da liberação de neutrófilos da medula óssea, porém acrescenta que também é reflexo de uma menor migração para os tecidos assim como de uma diminuição da aderência destas células, o que propicia o seu desvio para o *pool* circulante. Em cães, o pico de resposta se estabelece aproximadamente seis a oito horas após uma única dose oral de corticóide (prednisolona) com retorno aos valores basais entre doze a vinte e quatro horas após.

A linfopenia deve-se principalmente à linfólise de linfócitos T sensíveis à esteróides, no sangue e nos tecidos linfóides, ou decorrente da marginação e seqüestro de linfócitos nos sítios extravasculares (JAIN, 1993). O autor indicou que os linfócitos T no sangue e nos tecidos são mais sensíveis aos efeitos linfólíticos. Estas células apresentam receptores com alta afinidade pelos corticóides em seu citoplasma, sendo que, após a interação, dispara a síntese de proteínas, que inibem o transporte de glicose intracelular e a síntese lipídica. Além disso, uma endonuclease pode, ser ativada e ocasionar fragmentação do DNA. Em cães, a linfopenia por ação dos corticóides se dá pela redistribuição de linfócitos para a medula óssea e compartimentos orgânicos, como o mecanismo comum, reservando a linfólise e depleção dos tecidos linfóides, para os casos em que estão envolvidas altas doses deste hormônio, por longos períodos (Schultze, 2000).

A eosinopenia se instala como resultado do efluxo diminuído de células a partir da medula óssea, decorrente da interferência com o efeito quimiotático da histamina sobre os eosinófilos. A entrada de eosinófilos nos tecidos é influenciada por várias substâncias quimiotáticas, dentre os quais se destacam os produtos oriundos dos mastócitos, como a histamina. O estro acarreta liberação de histamina a partir da degranulação de mastócitos e conseqüente eosinofilia. O mecanismo de eosinopenia induzida por corticóides permanece para ser esclarecido, contudo foram propostos o decréscimo da liberação medular, a lise intravascular, o seqüestro em órgãos ricos em macrófagos e o aumento da migração de células para os tecidos. Tais efeitos são provavelmente mediados pela neutralização da histamina circulante, induzida por corticóides e pela redução na liberação de histamina pelos mastócitos (JAIN, 1993).

A resposta dos basófilos aos corticóides é semelhante à dos eosinófilos, porém em geral, não é observada dada a presença de basófilos no sangue ser normalmente rara. Nas espécies que reagem de forma inconsistente com monocitose pode se desenvolver monocitopenia nas fases iniciais embora após a fase aguda ocorra monocitose (JAIN, 1993).

## 2.8 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO

O intuito da IATF é simular o ciclo reprodutivo normal da vaca e com isso reduzir intervalo entre os partos, induzir precocemente a primeira gestação, fazer com que vacas que estejam em anestro reprodutivo voltem a ciclar.

O ciclo estral é controlado pela interação entre FSH, LH, estrógeno e progesterona. Para induzir a ovulação deve ser estimulado um grupo de folículos para se desenvolver até um estágio de maturação quando um pico de LH (ou um hormônio similar) provoque a ovulação, isso seria uma sincronização de estro (McDONALD'S, 2003).

O estrógeno é necessário para as manifestações de estro, em IATF quando a fêmea é preparada com progesterona necessita-se de menos estrógeno. O estrógeno ainda controla a liberação de hormônios hipofisários, potencializa os efeitos da ocitocina e prostaglandinas sobre as contrações uterinas, exerce efeito de reatualimentação positivo e negativo no controle da liberação de FSH e LH (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

A progesterona inibe as contrações uterinas e estimula as glândulas endometriais a secretar o fluido endometrial, necessário à nutrição do blastocisto antes da implantação. É necessária para a manutenção da gestação. Altos níveis de progesterona inibem o cio e um pico ovulatório de LH (HAFEZ e HAFEZ, 2004; CUNNIGHAM, 2004).

A gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) exibe atividades semelhantes à do FSH e LH, ela tem sido utilizada principalmente para superovulação e em ovelhas. A gonadotrofina coriônica humana (hCG) possui funções semelhantes a do LH, é utilizado para induzir a ovulação (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Existem várias prostaglandinas, mas a mais envolvida em processos reprodutivos é a  $PGF_2\alpha$  que tem sido envolvida na liberação de gonadotrofinas, ovulação, regressão de corpo lúteo, motilidade uterina, parto e transporte de espermatozóides (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

O mecanismo envolvido na ovulação normal de vacas e novilhas é induzido por um aumento nos níveis de estradiol, este aumento vai provocar uma elevação na frequência de LH, na hipófise anterior, este pico de LH que provoca a ovulação. Este processo ocorre cerca de três dias antes da mesma (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

O tratamento apenas com progestágenos consiste em aumentar a vida do corpo lúteo (11 – 14 dias) afim de que as vacas apresentem regressão do mesmo e assim ovulem (GONSALVES et al., 2002). Porém quando se adiciona o benzoato de estradiol, observa-se uma onda ovulatória após o pico de LH. A associação de progesterona, estrógeno e prostaglandina tem demonstrado ser o melhor método de sincronização para bovinos (HAFEZ e HAFEZ, 2004; GONSALVES et al., 2002).

Como o processo de IATF baseia - se na administração exógena de hormônios relacionados à reprodução e para realizar este procedimento são necessários vários manejos sucessivos e idas constantes ao curral o que geraria estresse, e este, interferiria diretamente sobre o protocolo a ser realizado. Pretende se investigar o comportamento e a hematologia destas fêmeas a fim de verificar se os manejos sucessivos interfere na reatividade destas, e verificar a relação entre estes manejos com padrão hematológico e taxa de gestação.

### 3 REFERÊNCIAS

- AGUILAR, N.M.A. **Avaliação da reatividade de bovinos de corte e sua relação com caracteres reprodutivos e produtivos**. 2007. 80p. (Dissertação) – Universidade Paulista Julio de Mesquita Filho - UNESP, Jaboticabal – SP.
- ALBRIGHT, J.L.; ARAVE, C.W. *The behaviour of cattle*. Wasllingford, Oxon (Reino Unido): CABI Publishing, 1997. 306p.
- BADDELEY, A. **Memória humana. Teoria y prática**. Madrid: Mc Graw Hill, 1999. 520p.
- BLANCHARD, R.J.; BLANCHARD, D.C. Ethoexperimental approaches to the biology of emotion. **Annual Review of Psychology**, v.39, p.43-68, 1988.
- BOISSY, A.; BOUISSOU, M.F. Effects of androgen treatment on behavioral and physiological responses of heifers to fear-eliciting situations. **Hormones and Behavior**, v.26, p.66-83, 1994.
- BOISSY, A.; LE NEINDRE, P. Behavioral, cardiac and cortisol responses to brief peer separation and reunion in cattle. **Physiology & Behavior**, v.61, n5, p.693-699, 1996.
- BOISSY, A.; TERLOUW, C.; LE NEINDRE, P. Presence of Cues from Stressed Conspecifics Increases Reactivity to Aversive Events in Cattle: Evidence for the Existence of Alarm Substances in Urine. **Physiology & Behaviour**, v.63, n4, p.489-495, 1998.
- BOISSY, A; FISHER A.D.; BOUIX, J. Genetics of fear in ruminant livestock. **Livestock Production Science**, v.93, p. 23–32, 2005

- BREEN, K.M.; KARSCH, F.J. Does cortisol inhibits pulsatile luteinizing hormone secretion at the hypothalamic or pituitary level? **Endocrinology**, v.145, p.692-698, 2004.
- BRISTOW, D.J., HOLMES, D. S. Cortisol levels and anxiety-related behaviors in cattle. **Physiology & Behavior**,v.90, p.626-628, 2007.
- BROOM, D.M., JOHNSON, K.G. Stress and animal welfare. London: Chapman & Hall, 1993. 211p.
- BURROW, H. M. Measurements of temperament and their relationships with performance traits of beef cattle. **Animal Breeding Abstracts**, United Kingdom, v. 65, n. 7, p. 477-495, 1997.
- BURROW, H. M. The effects of inbreeding on productive and adaptive traits and temperament of tropical beef cattle. **Livestock Production Science**, v.55, n.1, p. 227-243, 2001.
- BURROW, H. W.; SEIFERT, G. W.; COBERT, N. J. A new technique for measuring temperament in cattle. **Proceedings of Australian Society of Animal Production**, v.17, p. 154-157, 1988.
- BURROW, H. M.; PRAYAGA, K. C. Correlated responses in productive and adaptive traits and temperament following selection for growth and heat resistance in tropical beef cattle. **Livestock Production Science**, v. 86, n. 1/3, p. 143–161, 2004.
- CARLSON, N. R. **Fisiologia do comportamento**. 7.ed. Barueri-SP: Manole, 2002.699p.
- CUNNINGHAM J.G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 3.ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2004.580 p.
- DAVIS, A.K.; MANEY, D.L.; MAERZ, J.C. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. **British Ecological Society**, p. 1-13, 2008.
- DAS, K.S.; DAS, N. Pre-partum udder massaging as a means for reduction of fear in primiparous cows at milking. **Applied Animal Behaviour Science**, v.89, p.17-26, 2004.
- DEBUS, N. BREEN, K.M.; BARRELL, K.B. Does cortisol mediate endotoxin-induced inhibition of pulsatile luteinizing hormone and gonadotropin-releasing hormone secretion? **Endocrinology**, v.143, p.3748-3758, 2002.
- DOBSON, H.; SMITH, R.F. What is stress and how does it affect reproduction? **Animal Reproduction Science**, v.60-61, p.743-752, 2000.
- DUKES. **Fisiologia dos animais domésticos**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2006.926p.
- ENCARNAÇÃO, R.O. **Estresse e produção animal**. 3 ed. Campo Grande: Embrapa, 1997. 32 p.

- FRASER, A.F., BROOM, D.M. **Farm animal behaviour and welfare**. 3ed. London: Baillière Tindall, 1990. 437p.
- FELDMAN B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology** 5<sup>a</sup>ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 1174p.
- GONSALVES, P.B.D; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. São Paulo: Varela, 2002. 340p.
- GRANDIN, T. Assessment of stress during handling and transport. **Journal Animal Science**, v.75, p.249-257, 1997.
- GRANDIN, T.; DEESING, M. J. **Genetics and the behaviour of domestic animals**. California: Academic Press, 1998. 356p.
- GRANDIN, T. **Livestock handling and transport**. Wasllingford, Oxon (Reino Unido): CABI Publishing, 2000, p.63-85.
- GRAHAM S. S. Neutrophils. In: FELDMAN B.F., ZINKL, J.G., JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5<sup>a</sup> ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p.281-296.
- HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**, 7 ed. Barueri-SP: Manole, 2004. 513p..
- HERMAN, A.E.; GALABURDA, A.M.; FITCH, H.R.; CARTER, A.R.; ROSEN, G.D. Cerebral Microgyria, Thalamic Cell Size and Auditory Temporal Processing in Male and Female Rats. **Cerebral Córtex**, v. 7, p.453-464, 1997.
- JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.
- JOCA, S.R.L.; PADOVAM, M.C.; GUIMARÃES, F.S. Estresse, depressão e hipocampo. **Revista Brasileira Psiquiatria**, v. 25, Suppl. II, p.46-51, 2003.
- KERR, G. M. **Exames laboratoriais em medicina veterinária bioquímica clínica e hematologia**. 2<sup>a</sup> ed. São Paulo: Roca, 2003. 436p.
- LEDOUX JE. Emotion circuits in the brain. **Annual Review of Neuroscience**, v.23, 2000, p.155-184.
- LEE, C.; KISHORE, O.; REED, M.; HENSHALL, J. Methods of training cattle to avoid a location using electrical cues. **Applied Animal Behaviour Science**, v.108, p.229-238, 2007.
- McDONALD'S, L.E. **Veterinary endocrinology and reproduction**, 5.ed. Iowa: Iowa State Press, 2003. 597p.
- MAFFEI, W.E.; BERGMANN, J.A.G.; PINOTTI, M.; OLIVEIRA, M.E.C., SILVA, C.Q. Reatividade em ambiente de contenção móvel: uma nova metodologia para avaliar o temperamento bovino. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v.58, n.6, p.1123-1131, 2006.

- MEZZASSALMA, MA; VALENÇA, A.M.; LOPES, F.L.; NASCIMENTO, I.N.; ZIN, W.A. Neuroanatomia do Transtorno de Pânico. **Revista Brasileira Psiquiatria**, v. 26, suppl. 3, p.202-206, 2004.
- MORRIS, C. A.; CULLEN N. G.; KILGOUR, R.; BREMNER, K. J. Some genetic factors affecting temperament in *Bos taurus*. **New Zeland Journal Agriculture Research**. v.37, n.2, p.167-175, 1994.
- MULLER, R.; VON KEYSERLINGK, A. G.H. M. Consistency of flight speed and its correlation to productivity and to personality in *Bos Taurus* beef cattle. **Applied Animal Behaviour Science**, v.99, n.3-4, p.193-204, 2006.
- PAJOR, E.A.; RUSHEN, J.; DE PASSILLÉ, A.M.B. Aversion learning techniques to evaluate dairy cattle handling practices. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 69, p.89–102, 2000.
- PIOVEZAN, U. **Análise de fatores genéticos e ambientais na reatividade de quatro raças de bovinos de corte ao manejo**. Dissertação de mestrado, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias / UNESP, Jaboticabal - SP, 1998. 50p
- PRELLE, I.; PHILIPS, C.J.C.; PARANHOS DA COSTA, M.J.R.; VANDENBERGHE, N.C.; BROOM, D.M. Are cows that consistently enter the same side of a two-sided milking parlour more fearful of novel situations or more competitive? **Applied Animal Behaviour Science**, v.87, p.193-203, 2004.
- RIVIER, C.; RIVEST, S. Effect of stress on the activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis: peripheral and central mechanisms. **Biology of Reproduction**, v.45, p.523-532, 1991.
- ROMEYER, A.; BOUISSOU, M.F. Assessment of fear reactions in domestic sheep and influence of breed and rearing conditions. **Applied Animal Behaviour Science**, v.34, p.93-119, 1992.
- ROSA, M.S. **Ordenha sustentável: a interação retiro-vaca**. 2004. 52p, (Tese) – Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho- UNESP, Jaboticabal – SP.
- RUEDA P.M.; COSTA E SILVA, E.V.; PASSOS, T.S.; RUSSI, L.S.; DIAS, F.C.F; STUPP, W.; ZUCCARI, C.E.S.N. Reatividade de fêmeas bovinas e eficiência reprodutiva em inseminação artificial – Resultados Preliminares. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42, 2005. Goiânia - GO. **Anais...** CD-ROM.
- RUSHEN, J.; TAYLOR, A.A.; PASSILLÉ, A.M. Domestic animals fear of humans and its effect on their welfare. **Applied Animal Behaviour Science** , v.64, p.285-303, 1999.

- SCHULTZE A. E. Interpretation of canine leukocyte responses. In: FELDMAN B.F., ZINKL, J.G., JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Philadelphia: Editora Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p.366- 381.
- SELYE, H. **Stress a tensão da vida** São Paulo: Ibrasa, 2ª ed.1965.
- SILVEIRA, I.D.B.; FISCHER, F.; MENDONÇA, G. Comportamento de bovinos de corte em pista de remate. **Ciência Rural**, v.36, n.5, p.1529-1533, 2006.
- THAYLOR J.A. Leukocyte responses in ruminants. In: FELDMAN B.F., ZINKL, J.G., JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5ª ed. Philadelphia: Editora Lippincott Williams & Wilkins, p.391 – 404.
- WAYNERT, D.F.; STOOKEY, J.M.; SCHWARTZOPF, G.; WATTS, J.M.; WALTZ, C.S. The response of beef cattle to noise during handling. **Applied Animal Behaviour Science**, v.62, p. 27-42, 1999.
- WATTS, M.J.; STOOKEY, J.M. Effects of restraint and branding on rates and acoustic parameters of vocalization in beef cattle. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 62, p.125-135, 1999.



**ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS DE VACAS NELORE SUBMETIDAS À  
MANEJOS SUCESSIVOS DURANTE UM PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO  
ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO**

**RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito gerado por manejos consecutivos durante um protocolo de IATF sobre o hemograma de vacas Nelore (n=21) primíparas com bezerro ao pé. Foi realizada a análise de *Friedman* para averiguar a variação hematológica no decorrer de quatro dias do protocolo, o teste de *Wilcoxon* para verificar diferenças entre gestantes e não gestantes e realizou-se regressão logística a fim de estabelecer quais tipos celulares estariam relacionados com a taxa de gestação. Houve variação de células leucocitárias como linfócitos, neutrófilos, eosinófilos e do hematócrito ao longo dos manejos sucessivos ( $p < 0,05$ ). A probabilidade de gestação foi influenciada pelo número absoluto de eosinófilos, sendo que as vacas que apresentaram valores de eosinófilos mais elevados foram as que obtiveram maior probabilidade de ficarem gestantes, evidenciando que o estresse gerado por manejos consecutivos pode dificultar a gestação.

**Palavras-chave:** gado de corte, hematologia, taxa de gestação, estresse

**ABSTRACT**

*The objective of this study was to evaluate the effect of consecutive handlings during a FTAI protocol on blood count of Nelore lactating primiparous cows (n=21). Friedman's analysis was accomplished to discover the hematological variation in elapsing of four days of the protocol while Wilcoxon test was perform to investigate differences among pregnant and no pregnant cows. We also execute logistics regression in order to verify which cellular types would be related with the pregnancy rates. There was variation of leucocitary cells as lymphocytes, neutrophils, eosinophils and of the hematocrit along the successive handlings ( $p < 0,05$ ). Pregnancy rate was influenced by the absolute number of eosinophils, and the cows that presented a larger number of this cell had a larger probability of getting pregnant, evidencing that the stress generated by consecutive handlings hinders the gestation.*

**Keywords:** beef cattle, hematolog, pregmancy rate, stress

## INTRODUÇÃO

O estresse físico, emocional ou provocado por enfermidades é mediado pelos efeitos da adrenalina e corticóides (JAIN, 1993). A influencia do estresse prolongado sobre a função reprodutiva é mediada e estimulada por hormônios liberados durante as respostas adaptativas, dentre os quais se destacam o hormônio liberador de corticotropina (CRH), hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), opióides endógenos e o cortisol (RIVER e RIVEST, 1991). Estes hormônios atuam interferindo na secreção de mediadores necessários para a produção de esteróides sexuais e para o desencadeamento da dinâmica folicular. O estresse agudo afeta mecanismos fisiológicos, o que pode comprometer a reprodução, pois sabe-se que envolvem a liberação do hormônio luteinizante (LH), podendo deste modo impedir o momento da ovulação (DOBSON e SMITH, 2000).

A adrenalina e a noradrenalina preparam o organismo do animal para a luta ou fuga. Esta resposta demanda um aumento na frequência e contratilidade do coração, dilatação dos vasos sanguíneos, aumento da pressão sanguínea, aumento da glicogenólise, dilatação das pupilas e das vias aéreas e piloereção (CUNNIGHAM, 2004; CARLSON, 2002).

A avaliação das catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) é tecnicamente difícil em decorrência da concentração baixa, da meia-vida curta e sensibilidade alta a eventos estressantes destes hormônios. Sua mensuração normalmente é realizada de forma indireta através das respostas do organismo à ativação do sistema nervoso autônomo: frequência da defecação, sudorese, atividades cardiovasculares como pressão sanguínea e frequência cardíaca (GRANDIN e DEESING, 1998).

Segundo Davis *et al* (2008) um crescente número de pesquisadores estão utilizando a contagem de glóbulos brancos no sangue como um indicador de estresse, sendo um método confiável, de fácil aplicação a campo e de baixo custo.

Como as principais respostas ao estresse são mediadas pela adrenalina e cortisol verifica-se uma alteração no quadro leucocitário, minutos após a secreção da primeira enquanto que as alterações decorrentes da ação dos corticosteróides só se manifestam algumas horas após o estresse sofrido. Neutrofilia e/ou linfocitose são esperadas devido à atividade da adrenalina (JAIN, 1993). A adrenalina liberada sob várias formas de estresse agudo, físico ou emocional, promove uma neutrofilia transitória (JAIN, 1993), denominada pseudoneutrofilia, em que se detecta uma duplicação do valor normal de neutrófilos sanguíneos, durante dez a vinte minutos. Este aumento seria decorrente do desvio das células do *pool* marginal em direção ao *pool* circulante, atribuído ao efeito  $\beta$ -adrenérgico da adrenalina e redução da aderência dos neutrófilos à parede vascular (GRAHAM, 2000).

Os corticóides liberados endogenamente, em resposta ao estresse, promovem uma típica leucocitose com neutrofilia, geralmente sem desvio à esquerda, linfopenia e eosinopenia; em bovinos a monocitose seria um achado inconstante (JAIN, 1993). Graham (2000) afirma que a neutrofilia é moderada (entre duas a três vezes o normal dependendo da espécie animal), porém descreve a monocitose como um fato.

Em manejos sucessivos como em IATF pode ocorrer uma cronificação do estresse nos animais, levando à liberação de cortisol e adrenalina, o que por sua vez, poderia alterar os padrões hematológicos destas fêmeas e conseqüentemente a taxa de gestação.

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito dos manejos sucessivos sobre os parâmetros hematológicos e sua correlação com a taxa de gestação em fêmeas submetidas à IATF.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em uma fazenda no município de Miranda – MS (Região centro-oeste brasileira: 19°51'S e 56°59'W, altitude de 125 m), precipitação pluviométrica anual média de 1182 mm e temperatura média de 25°C (15°C a 38°C). As pastagens são formadas principalmente de *Brachiaria spp* e *Panicum maximum* (colonião) e algumas áreas com pastagem nativa do pantanal.

De um total de 211 vacas da raça Nelore, primíparas e com bezerro ao pé, com 120 dias de pós parto, amostrou-se 21 vacas, ao acaso, no primeiro dia do protocolo, as quais também foram acompanhadas nos dias subseqüentes. As vacas foram submetidas a manejos sucessivos no curral durante um protocolo de IATF com duração de onze dias e quatro idas ao curral (dia 0 – o dia da aplicação do implante intra-vaginal + benzoato de estradiol; d7- prostaglandina (PGF<sub>2</sub>α); d9- retirada do implante + ECP<sup>®</sup> + shang; d11- inseminação artificial).

Foram coletados 10 ml de sangue da veia caudal, logo após a chegada do animal no tronco, sendo que 1 ml foi armazenado em tubos contendo EDTA objetivando a determinação da leucometria global, do hematócrito e a confecção de esfregaços sangüíneos a seres utilizados na avaliação da leucometria diferencial.

Os esfregaços de sangue foram corados com May-Grunwald-Giemsa (MGG), e observados em microscópio óptico (aumento de 1000 vezes). A leucometria global foi realizada em câmara de Neubauer de acordo com metodologia de Jain (1986).

O hematócrito foi determinado mediante microcentrifugação (Fanen<sup>®</sup> centrimicro modelo

211) do sangue total em tubos capilares e a leitura procedida de forma manual segundo Jain (1986).

Foi efetuada a análise de *Friedman* para averiguar a variação hematológica no decorrer de quatro dias do protocolo e o teste de *Wilcoxon* para verificar diferenças entre vacas gestantes e não gestantes, proposto por Siegel e Castellan Junior (2006). Ainda realizou-se regressão logística para a determinação da mesma, as matrizes do experimento após o diagnóstico de gestação foram classificadas como gestantes (1) e não gestante (0). Caracterizando resposta binária. Dados resultantes desse tipo de análise são provenientes de uma distribuição binomial com probabilidade  $p$ , que é a probabilidade de ocorrência, e  $mi$ , a probabilidade de não-ocorrência do evento, ou seja:

$$y_i \sim Bin(mi, pi),$$

A utilização de regressão logística é frequentemente utilizada na análise da relação entre respostas discretas com variáveis exploratórias (Stokes et al., 2000). Com a metodologia, objetivou-se modelar a probabilidade ( $p$ ) das matrizes serem classificadas como gestantes (1), em função dos parâmetros sanguíneos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios observados no hemograma das vacas Nelore estiveram dentro dos valores de referência descritos para bovinos adultos por Jain *et al.* (1986), Tabela 1.

Tabela 1 Valores médios de variáveis hematológicas de acordo com o diagnóstico de gestação de vacas Nelore primíparas com bezerro ao pé submetidas a protocolo de IATF

Variáveis	Valores de Referência (mm <sup>3</sup> )	Não Gestantes (n=16)	Gestante (n=5)
Bastonetes	0 - 240	63,87 ± 91,01	90,09 ± 178,49
Segmentado	600 - 5400	3024,00 ± 1657,00	3647,00 ± 1775,00
Eosinófilo	80 - 2400	1009,00 ± 663,31	1711,00 ± 923,54
Basófilo	0 - 240	45,47 ± 106,43	56,18 ± 126,80
Linfócito	1800 - 9000	4898,00 ± 2407,00	5536,00 ± 1002,00
Monócito	80 - 840	214,70 ± 203,50	203,36 ± 213,35
Hematócrito	24 - 48	32,23 ± 3,69	31,29 ± 4,40

\*Jain et al, (1986)

Os valores de referência de normalidade não foram ultrapassados por nenhum dos tipos celulares. Ocorreu uma mudança no perfil de linfócitos somente para as vacas não gestantes, no dia sete do protocolo, sendo que os demais dias não diferiram nem do D0 nem do D7 (Figura 1). Este aumento de acordo com Jain (1993) e Feldman *et al.* (2000) pode ser atribuído à descarga de adrenalina de acordo com Jain (1993) e Feldman *et al.* (2000), enquanto que, no caso de liberação de corticóides seria esperado o inverso. Pode-se desta forma supor que as vacas não gestantes foram mais sensíveis ao impacto inicial dos manejos sucessivos, além de que no primeiro dia de manejo é colocado o implante de progesterona, que pode causar algum desconforto ao animal. Bezerros após 6 horas de desmama aumentam o valor de neutrófilos e diminuem o número de linfócitos, aumentando desta forma a relação neutrófilo:linfócito, as concentrações séricas de cortisol e adrenalina também estavam elevadas, sugerindo que este quadro leucocitário estaria relacionado ao estresse desencadeado pela desmama (HICKEY *et al.* 2003).

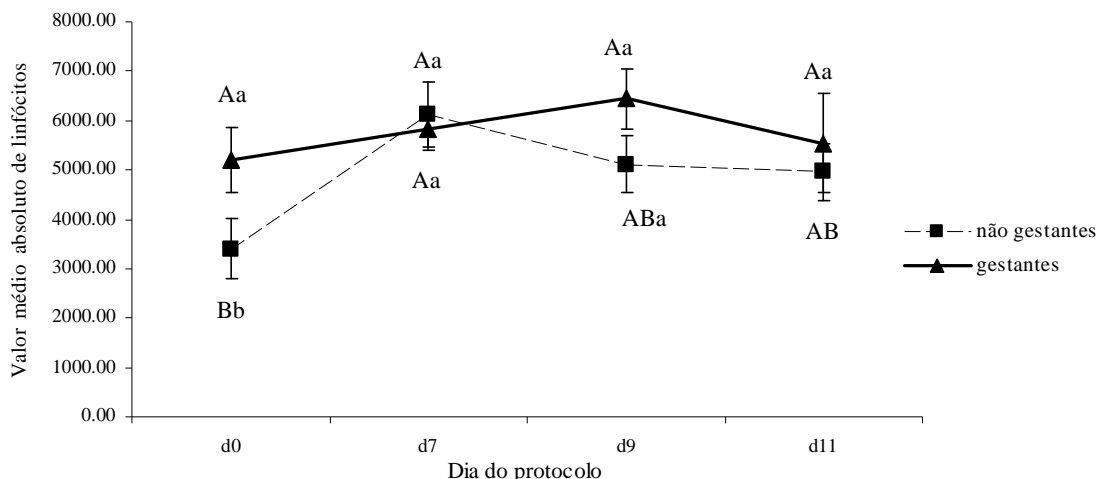


Figura 1 Contagem global média de linfócitos de 21 vacas primíparas com bezerros ao pé da raça Nelore em quatro avaliações durante protocolo de IATF. Letras maiúsculas indicam diferença significativa no decorrer do protocolo pelo teste de *Friedman*, letras minúsculas indicam diferença significativa entre gestantes e não gestantes pelo teste de *Wilcoxon* ( $p < 0,05$ )

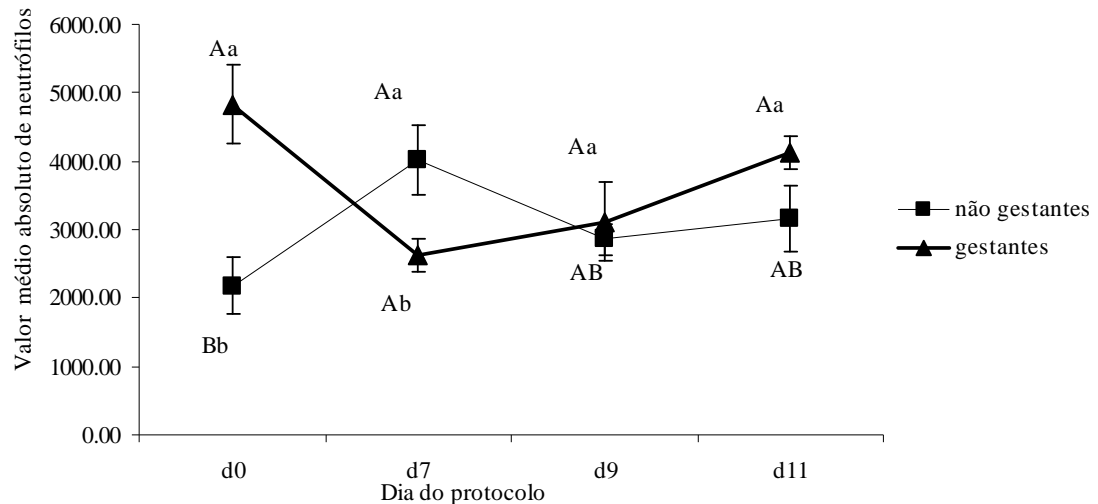


Figura 2 Contagem global média de neutrófilos de 21 vacas primíparas com bezerros ao pé da raça Nelore em quatro avaliações durante protocolo de IATF. Letras maiúsculas indicam diferença significativa no decorrer do protocolo pelo teste de *Friedman*, letras minúsculas indicam diferença significativa entre gestantes e não gestantes pelo teste de *Wilcoxon* ( $p < 0,05$ )

O nível observado dos neutrófilos foi significativamente diferente no D0 e D7 entre gestantes e não gestantes ( $p < 0,05$ ). Ocorreu um aumento no número de neutrófilos das vacas não gestantes o que pode estar relacionado tanto com a descarga de adrenalina como com a elevação dos níveis plasmáticos de cortisol. Uma vez que Sporer *et al.* (2007) observaram aumento tanto do valor de neutrófilos quanto dos níveis de cortisol após 4,5 horas de transporte em bezerros. O inverso ocorreu com as vacas gestantes (Figura 2).

O hematócrito também parece ter sido afetado pela ação da adrenalina (Figura 3), somente nas vacas gestantes. Uma eritrocitose relativa pode ocorrer em indivíduos excitados como resultado da contração esplênica induzida pelas catecolaminas, principalmente em indivíduos excitáveis de algumas espécies como cães e cavalos (FELDMAN *et al.*, 2000). Em bezerros através da administração de adrenalina, Paape *et al.* (1973) observaram sua influência sobre o hematócrito, através do aumento do número de eritrócitos sanguíneos devido a esplenocontração sendo que uma hora após os níveis do hematócrito retornaram aos valores basais.

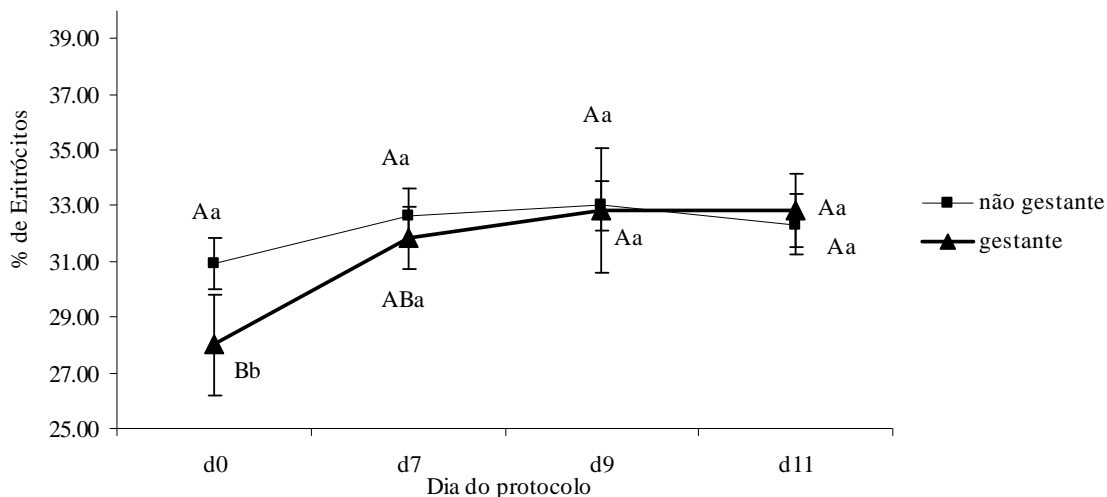


Figura 3. Porcentagem de eritrócitos de vacas primíparas com bezerros ao pé da raça Nelore em quatro avaliações durante protocolo de IATF. Letras maiúsculas indicam diferença significativa no decorrer do protocolo pelo teste de *Friedman*, letras minúsculas indicam diferença significativa entre gestantes e não gestantes pelo teste de *Wilcoxon* ( $p < 0,05$ )

Realizou-se uma análise de regressão logística a fim de verificar quais células leucocitárias estariam contribuindo negativa ou positivamente para o estabelecimento da gestação.

Os parâmetros estimados do intercepto (-2.4744) e o do eosinófilos (0.0116) foram significativos. A equação de regressão logística obtida foi:

$$P_i = \text{Prob}(Y_i = 1) = \frac{e^{(-2,4744 + 0,0116 * EOSABS)}}{1 + e^{(-2,4744 + 0,0116 * EOSABS)}}$$

O modelo possui 73,1 % de concordância da equação com os dados observados, ou seja, o modelo estimado possui uma boa aderência.

Os animais que apresentaram níveis médios menores de eosinófilos foram os que demonstraram menor probabilidade de gestação, sinalizando uma possível ação do cortisol (Figura 3). Lee *et al.* (1976) avaliando a associação entre cortisol e eosinófilo verificaram que ocorreu correlação negativa entre os mesmos ( $r = -0,16$   $p < 0,05$ ).

O número de eosinófilos não variou no decorrer dos manejos sucessivos, porém foi significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) entre vacas gestantes e não gestantes nos dias 7 e 11 (Figura 4).

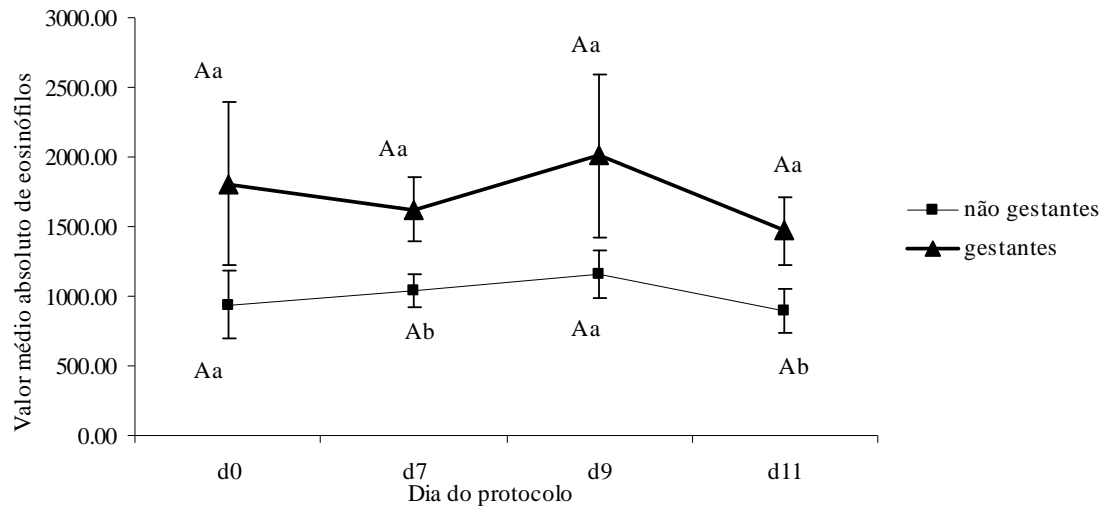


Figura 4 Número absoluto de eosinófilos de vacas primíparas com bezerros ao pé da raça Nelore em quatro avaliações durante protocolo de IATF.

Letras maiúsculas indicam diferença significativa no decorrer do protocolo pelo teste de *Friedman*, letras minúsculas indicam diferença significativa entre gestantes e não gestantes pelo teste de *Wilcoxon* ( $p < 0,05$ ).

O aumento do cortisol pode influenciar a taxa de gestação de diferentes formas uma vez que agentes estressores, estão associados com a inibição da secreção de gonadotrofinas, principalmente LH (RIVIER E RIVEST, 1991) este fato segundo Breen e Karsch (2004) se deve ao potencial do cortisol de diminuir a resposta da hipófise aos pulsos de GnRH. Rosa e Wagner (1981) mostraram isso, pois através de uma hiper-estimulação da adrenal sobre a função do corpo lúteo uma administração crônica de ACTH ou hidrocortisona em novilhas, causa uma diminuição da secreção de  $P_4$  durante a fase luteal do ciclo estral. Desta forma sugeriram que o estresse, indicado pelo *status* hiperadrenal, pode inibir a secreção de  $P_4$  pelo corpo lúteo.



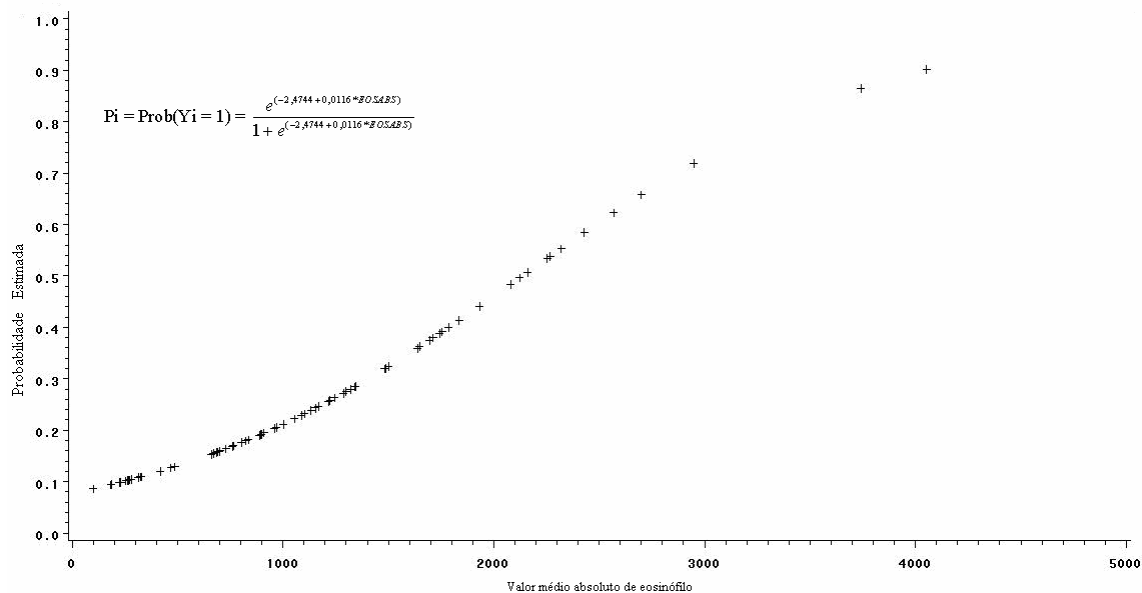


Figura 3 Probabilidade estimada da taxa de gestação em função do número de eosinófilos de 21 vacas Nelore primíparas com bezerro ao pé

Subadrio *et al.* (2000) verificaram que a concentração de células leucocitárias não foi influenciada pelo estágio reprodutivo da vaca; somente os neutrófilos variaram no sangue periférico durante a fase luteal, sendo maior nesta fase e no tratamento com progesterona. Portanto as diferenças encontradas entre as células leucocitárias, exceto para os neutrófilos, não são decorrência da fase do ciclo estral e sim, provavelmente, pelo estresse gerado pelos manejos sucessivos.

## CONCLUSÕES

O manejo sucessivo afetou as contagens de neutrófilos, linfócitos e eritrócitos, mostrando que alterações no leucograma podem ser utilizadas como parâmetro de estresse. O número absoluto de eosinófilos médio no período do protocolo de IATF pode ser utilizado como forma de definir a probabilidade da taxa de gestação de uma vaca.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- BREEN, K.M.; KARSCH, F.J. Does cortisol inhibits pulsatile luteinizing hormone secretion at the hypothalamic or pituitary level? **Endocrinology**, v.145, p.692-698, 2004.
- CARLSON, N. R. **Fisiologia do comportamento**. 7.ed. Barueri-SP:Manole, 2002.699p.
- CUNNINGHAM J.G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 3.ed. São Paulo:Guanabara Koogan, 2004. 580 p.
- DAVIS, A.K.; MANEY, D.L.; MAERZ, J.C. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. **British Ecological Society**, p. 1-13, 2008.
- DOBSON, H.; SMITH, R.F. What is stress, and how does it affect reproduction? **Animal Reproduction Science**, v.60-61, p.743-752, 2000.
- FELDMAN B.F., ZINKL, J.G., JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology** 5.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 1174p.
- GRANDIN, T.; DEESING, M. J. **Genetics and the behaviour of domestic animals**. San Diego-California: Academic Press, 1998. 356p.
- GRAHAM S. S. Neutrophils. In: FELDMAN B.F., ZINKL, J.G., JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p.281-296.
- HICKEY, M.C.; DRENNAN, M. EARLEY, B. The effect of abrupt weaning of suckler calves on the plasma concentrations of cortisol, catecholamines, leukocytes, acute-phase proteins and in vitro interferon-gamma production. **Journal Animal Science**, v.81, p.2847 – 2855, 2003.
- JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia:Lea & Febiger, 1993, 417p.
- JAIN N.C. **Veterinary hematology**. 4.ed. Philadelphia:Lea & Febiger, p.1221, 1986.
- LEE J. A., ROUSSEL J.D., BEATTY, J.F. Effect of temperature-season on bovine adrenal cortical function blood cell profile, and milk production. **Journal of Dairy Science**, v.59, n.1, p.104-108, 1976.
- PAAPE, M.J.; SCHULTZE,W.D.; MILLER,R.H.; SMITH, J.W. Thermal stress and circulating erythrocytes, leucocytes, and milk somatic cells. **Journal of Dairy Science**, v.56, n.1, p.84-91, 1973.
- RIVER, C.; RIVEST, S. Effect of stress on the activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis: peripheral and central mechanisms. **Biology of Reproduction**, v.45, p.523-532, 1991.

- ROSA, G.O., WAGNER, W.C. Adrenal-gonad interactions in cattle. Corpus luteum functions in intact and adrenalectomized heifers. **Journal Animal Science**, v.52, p.1098-1105, 1981.
- SIEGEL, S.; CASTELAN JUNIOR, N.J. **Estatística não-paramétrica para ciências do comportamento**. 2.ed. São Paulo: Artimed. 2006. 448p.
- SPOKER, K.R.; BURTON, J.L.; EARLY, B. et al. Transportation stress in young bulls alters expression of neutrophil genes important for the regulation of apoptosis, tissue remodeling, margination, and anti-bacterial function. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.118, p.19–29, 2007.
- STOKES, M.E.; DAVIS, C.S.; KOCH, G.G. **Categorical data analysis using SAS system**. 2.ed. Cary: 2000. 626p.
- SUBADRIO, A.L.; SHELDON, I.M.; NOAKES, D.E. Peripheral and intrauterine neutrophil function in the cow: the influence of endogenous and exogenous sex steroid hormones. **Theriogenology**, v.53, p.1591-1608, 2000.

**REATIVIDADE DE FÊMEAS BOVINAS SUBMETIDAS À MANEJOS SUCESSIVOS DURANTE UM PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF)**

**RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi verificar se há alteração na reatividade de fêmeas bovinas no decorrer dos manejos sucessivos de um protocolo de IATF. A reatividade foi avaliada por escore visual e velocidade de fuga, registrou-se também a frequência de ações utilizadas pelos funcionários (uso de choque, estímulo com ferrão, chute, tapa, bater no animal com a porteira do tronco), uso da voz, acidentes sofridos pelos animais e resistência (empacar, refugar, investir, coice, mugido) dos mesmos ao manejo. Foram avaliadas 155 vacas Nelore primíparas com bezerro ao pé. A variação dos escores nos dias do protocolo foi avaliada através do teste de *Friedman*. Houve variação dos escores de tensão e respiração ao longo do protocolo, observando-se um aumento da reatividade em decorrência dos manejos sucessivos.

**Palavras-chave:** gado de corte, temperamento

**ABSTRACT**

*The objective of this study was to verify if there is alteration in the reactivity of bovine females in elapsing of the successive handlings of a FTAI protocol. The reactivity was evaluated by visual score and flight speed. We also registered the frequency of resources used by the employees, use of the voice, accidents suffered by the animals and their resistance to the handling. We appraised 155 Nelore lactating primiparous cows. The variation of the scores in the days of the protocol was evaluated through Friedman's test. There were a variation of the tension scores and breathing along the protocol, being observed an increase of the reactivity due to the successive handlings.*

**Keywords:** beef cattle, temperament

## INTRODUÇÃO

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) tem sido cada vez mais utilizada, mas esta ferramenta do manejo reprodutivo intensifica a interação humano-animal, esta proximidade pode ser um estímulo positivo ou negativo dependendo da qualidade do manejo implementado, fazendo com que o temperamento dos animais tenha cada vez mais importância neste processo.

Segundo Burrow (1997) o temperamento pode ser definido como resposta comportamental dos animais frente ao manuseio pelos homens. Estas respostas podem ir da imobilidade (*freezing*) até a agressão. O maior componente do temperamento é o medo. E muitos efeitos negativos sobre a saúde e desempenho dos animais estão relacionados com este estado emocional, animais mais calmos facilitam o manejo (GRANDIN e DEESING, 1998).

A avaliação prática do temperamento é muito difícil, devido a sua complexidade e abrangência, é mais adequado trabalhar com o conceito de reatividade, que é definido como a qualidade ou estado daquele que protesta ou luta (FERREIRA, 2004). Este conceito pode ser aplicado para a avaliação das reações dos animais a diferentes situações de manejo.

Os métodos adotados para mensurar a reatividade propostos na literatura foram concebidos para machos, relacionando as respostas com ganho de peso. Estas observações são realizadas na balança, pois os animais já passariam por este local para a pesagem. Quando se pretende avaliar fêmeas em programas de inseminação artificial não há pesagem e o acréscimo de mais um manejo não é interessante, uma vez que o ideal é realizar o menor número de manejos possível.

Portanto, a avaliação de fêmeas em reprodução deve ser realizada no tronco de contenção, pois estas já passam durante o manejo por este local e assim a rotina do processo não é alterada. Mas, neste caso, a metodologia existente ainda é falha, pois os animais ficam contidos no tronco o que dificulta a observação do deslocamento na balança. Rueda et al. (2005) observaram que apenas a tensão foi correlacionada com a taxa de gestação ( $r_s = -0,1760$ ;  $p=0,0213$ ), podendo ser em decorrência da contenção dos animais evidenciando assim a necessidade de adaptação da metodologia existente. Segundo Fordyce *et al.* (1992), fêmeas com melhores escores de temperamento obtiveram melhores índices de concepção em relação às vacas com piores escores.

Nos protocolos de IATF os animais são levados ao curral várias vezes em um curto espaço de tempo e se o manejo e o temperamento destes não forem adequados, os animais podem não responder à esta técnica reprodutiva, em decorrência do estresse sofrido e desta forma diminuir a eficiência dos protocolos de IATF.

Este trabalho pretende verificar se há variação da reatividade dos animais submetidos a manejos sucessivos, inferindo desta forma o aumento ou não do estresse no decorrer do protocolo IATF.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido em uma propriedade rural voltada para a produção de bovinos de corte situada no município de Miranda – MS (Região centro oeste brasileira: 19°51'S e 56°59'W, altitude de 125 m), precipitação pluviométrica anual média de 1182 mm e temperatura média de 25°C (15°C a 38°C). As pastagens são formadas principalmente de *Brachiaria spp* e *Panicum maximum* (colonião) e algumas áreas com pastagem nativa do pantanal. Foram avaliada a reatividade de 155 fêmeas Nelore primíparas com bezerro ao pé, submetidas à um protocolo de IATF. As medidas de reatividade foram realizadas por dois observadores, antes de iniciar-se o período experimental realizaram-se avaliações de repetibilidade e confiabilidade intra e inter observadores. A metodologia de avaliação da reatividade foi realizada por escores visuais e velocidade de fuga (PIOVEZAN, 1998; AGUILAR, 2007), adaptada à realidade do procedimento de IATF:

1) *velocidade de fuga*, na qual se considera que animais mais reativos tendem a sair com maior velocidade da balança ou tronco. Para obtenção desta medida foram instaladas na saída do tronco de contenção duas células fotoelétricas com distância de 2 m entre elas. Quando o animal passava pela primeira, o cronômetro era acionado e desativado quando passava pela segunda, mostrando o tempo. Os registros de velocidade (m/s) foram divididos em cinco classes de reatividade classificando a reatividade em: calmo  $\leq 0,75$ ; inquieto 0,76 – 1,25; pouco reativo 1,26-1,75; reativo 1,76-2,25; muito reativo  $\geq 2,26$ .

2) *Escore de agitação* - levou em consideração a movimentação no tronco de contenção, audibilidade e intensidade da respiração, mugidos, coices e a tensão dos animais. Registrados da seguinte forma: **Movimentação no tronco de contenção:** 1- nenhum deslocamento, 2 - pouco deslocamento dentro tronco, parado a maior parte do tempo, 3 - deslocamento freqüente, não permanece na mesma posição mais do que alguns segundos, 4 - deslocamento contínuo e forçado, 5 - qualquer das situações anteriores com salto (1 ou mais); **Postura corporal:** 1 - em pé: animal mantém-se apoiado nos quatro membros, 2 - ajoelhado: em algum momento o animal apóia-se nos membros posteriores e nos jarretes, 3 - deitado: em algum momento o animal não se apóia em nenhum casco; **Respiração:** é composta de 1 - respiração não audível, 2 - respiração audível e profunda, 3 - bufando ou roncando; **Mugidos**

**e Coices:** foram avaliados de forma binomial; **Tensão:** 1 - animal relaxado (tônus muscular regular sem movimentos abruptos de cauda e/ou cabeça e pescoço, olho sem a membrana esclerótica aparente) 2 - tenso (tônus muscular tenso com movimentos abruptos de cauda e/ou cabeça e pescoço, com membrana esclerótica aparente ou não), 3 - muito tenso (tremores musculares membrana esclerótica aparente ou não). As medidas de movimentação na balança/tronco de contenção, postura corporal, mugidos, coices, respiração e tensão foram realizadas nos primeiros quatro segundos após a entrada do animal no tronco de contenção.

O escore composto foi adaptado de Aguilár (2007) sendo classificado da seguinte forma: Calmo (deslocamento = 0, Postura Corporal = 0, Tensão = 1, Respiração = 1, Coice e Mugido = 0/1); Ativo (deslocamento = 2, Postura Corporal = 1, Tensão = 1/2, Respiração = 1/2, Coice e Mugido = 0/1); Inquieto (deslocamento = 2/3, Postura Corporal = 1/2, Tensão = 2, Respiração = 2, Coice e Mugido = 0/1); Perturbado (deslocamento = 3/4, Postura Corporal = 1/2/3, Tensão = 3, Respiração = 2/3, Coice e Mugido = 0/1); Muito Perturbado (deslocamento = 4/5, Postura Corporal = 1/2/3, Tensão = 3, Respiração = 2/3, Coice e Mugido = 0/1); Paralisado (deslocamento = 1, Postura Corporal = 1, Tensão = tremor muscular, independente dos demais escores)

Foram ainda registrados, após 4 segundos, a ocorrência dos comportamentos de defecação, micção e tremor muscular das fêmeas durante toda a sua permanência no tronco de contenção, utilização de voz (0- não utilizou o recurso de voz; 1- utilizou o recurso de voz) pelo funcionário durante os procedimentos realizados a cada animais.

As ações utilizados pelos funcionários para movimentação dos animais dentro do tronco de contenção (uso de choque, estímulo com ferrão, chute, tapa, bater no animal com a porteira do tronco) e a resistência dos animais (empacar, refugar, investir, coice, mugido) foram registrados de forma binomial. Os animais submetidos à IATF foram avaliados quanto à reatividade em todos os manejos de curral até o dia da IA propriamente dito (definidos como D0 – o dia da aplicação do dispositivo intra-vaginal implante + benzoato de estradiol; D7- prostaglandina; D9- retirada do implante + cipionato de estradiol (ECP) + shang; D11- IATF). Todas as vacas foram sincronizadas com o mesmo protocolo de IATF.

*Análise Estatística* – Foi realizado o teste de *Friedman* para verificar a variação dos escores de reatividade, velocidade de fuga em classe e as variáveis (resistência dos animais, uso de voz e ações realizadas pelo funcionário) durante os manejos consecutivos, as variáveis ainda foram submetidas a correlação de *Spearman* para avaliar a correlação entre as mesmas conforme proposto por Siegel e Castellan Junior (2006).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho foi avaliado o impacto de manejos sucessivos impostos por um protocolo de IATF sobre a reatividade das fêmeas. Não houve diferença significativa quanto à resistência dos animais, recursos e voz utilizados pelos funcionários no decorrer dos manejos sucessivos. A média da utilização de ações, voz e a ocorrência de resistência nos quatro dias de protocolo foram de 12%, 94% e 62%, respectivamente.

Houve um aumento significativo ao longo do protocolo da ocorrência de tremor muscular (Figura 1) o que pode estar relacionado à liberação de adrenalina. A avaliação das catecolaminas é tecnicamente difícil em decorrência das suas baixas concentrações, curta duração da meia-vida e alta sensibilidade a eventos estressantes. Sua avaliação normalmente é indireta através da ativação do sistema nervoso autônomo (SNA): frequência da defecação, sudorese, atividades cardiovasculares como pressão sanguínea e frequência cardíaca (GRANDIN E DEESING, 1998).

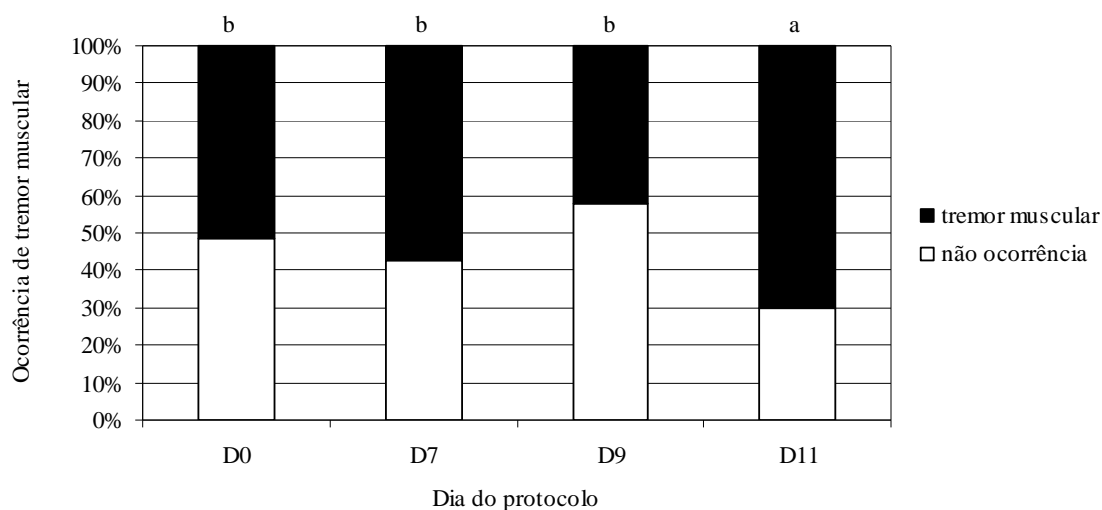


Figura 1. Porcentagem de ocorrência de tremor muscular no tronco de contenção em vacas de corte (Nelore) durante manejos sucessivos em um protocolo de Inseminação artificial em tempo fixo. Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Friedman em nível de significância de 5%.



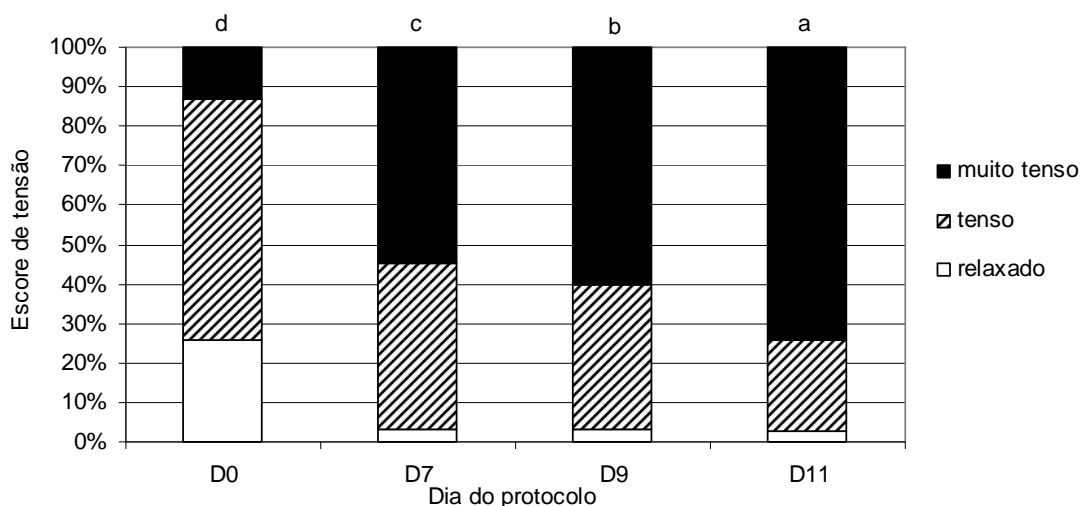


Figura 2 Porcentagem de observação dos escores de tensão no tronco de contenção em vacas de corte (Nelore) durante manejos sucessivos em um protocolo de Inseminação artificial em tempo fixo. Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Friedman em nível de significância de 5%.

Os resultados demonstram que ocorreram algumas variações dos escores de reatividade no decorrer do protocolo de IATF. Houve um aumento ( $p < 0,05$ ) do escore de tensão (Figura 2) corroborando com a alteração do tremor muscular, mostrando mais um efeito da ativação do SNA pela adrenalina, uma vez que o escore leva em consideração o tônus muscular, exoftalmia, que são respostas mediadas pela adrenalina. Isto fica mais evidente pelo fato de ter sido observado aumento significativo ( $p < 0,05$ ) na ocorrência de defecações em jatos e em frações (Figura 3) e da respiração “profunda” e “bufando” (Figura 4) no decorrer do protocolo.

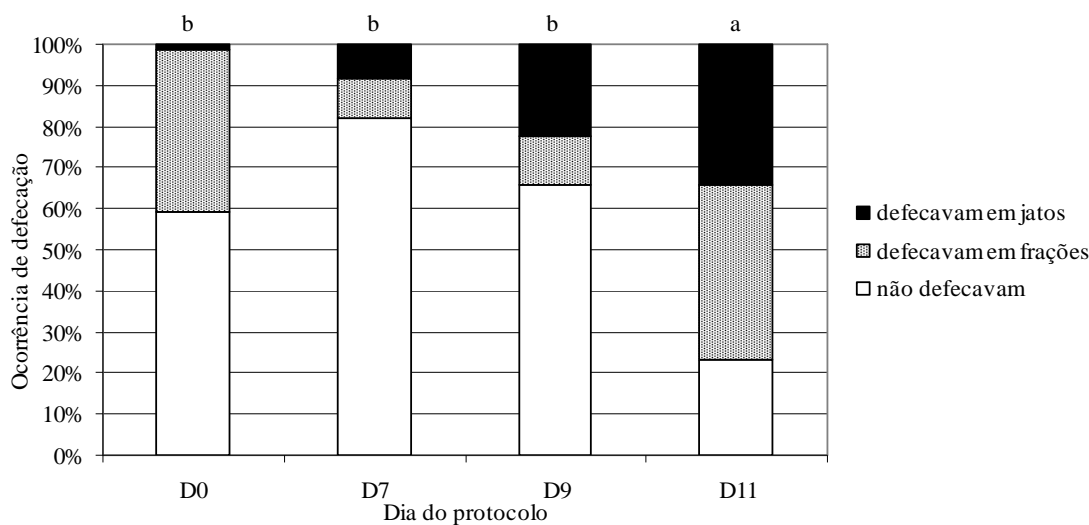


Figura 3 Porcentagem de ocorrência de defecação no tronco de contenção em vacas de corte (Nelore) durante manejos sucessivos em um protocolo de Inseminação artificial em tempo fixo. Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Friedman em nível de significância de 5%.

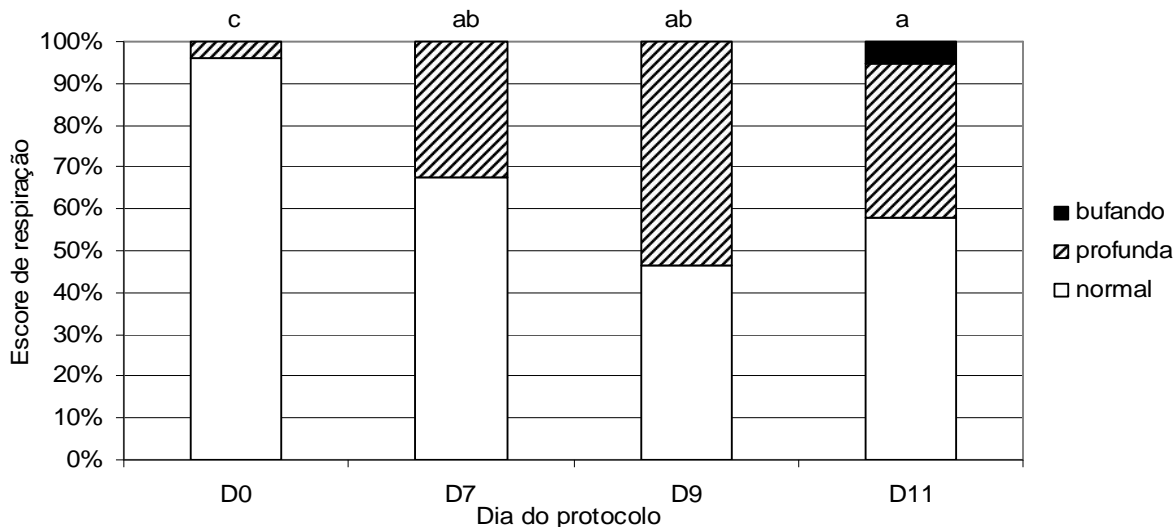


Figura 4 Porcentagem de observação dos escores de respiração no tronco de contenção em vacas de corte (Nelore) durante manejos sucessivos em um protocolo de Inseminação artificial em tempo fixo. Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Friedman em nível de significância de 5%.

Não houve diferença significativa nos dias do protocolo quanto à micção. A literatura brasileira tem mostrado em bovinos europeus de leite que a resposta de micção aumenta em situações de manejo positivo (ROSA, 2004; PETERS, 2008). Não ocorreu diferença significativa nos manejos sucessivos quanto a contração da região perineal, os manejos sofridos por estas fêmeas incluíam manipulação na região perineal o que dificultava a visualização da contração.

Os escores de deslocamento no tronco (Figura 5), postura corporal, mugidos e coices não variaram com o decorrer do protocolo ( $p < 0,05$ ).

Como os animais eram contidos com as duas guilhotinas antes dos quatro segundos de avaliação da reatividade a observação dos escores de deslocamento no tronco e postura corporal podem ter sido prejudicadas. Desta forma evidenciando que os escores de tensão e respiração não eram influenciados pela contenção dos animais.

O número de fêmeas que exibiam o comportamento de coice e mugido foi muito baixo, em média 3 a 5% e não variaram significativamente ao longo do protocolo.

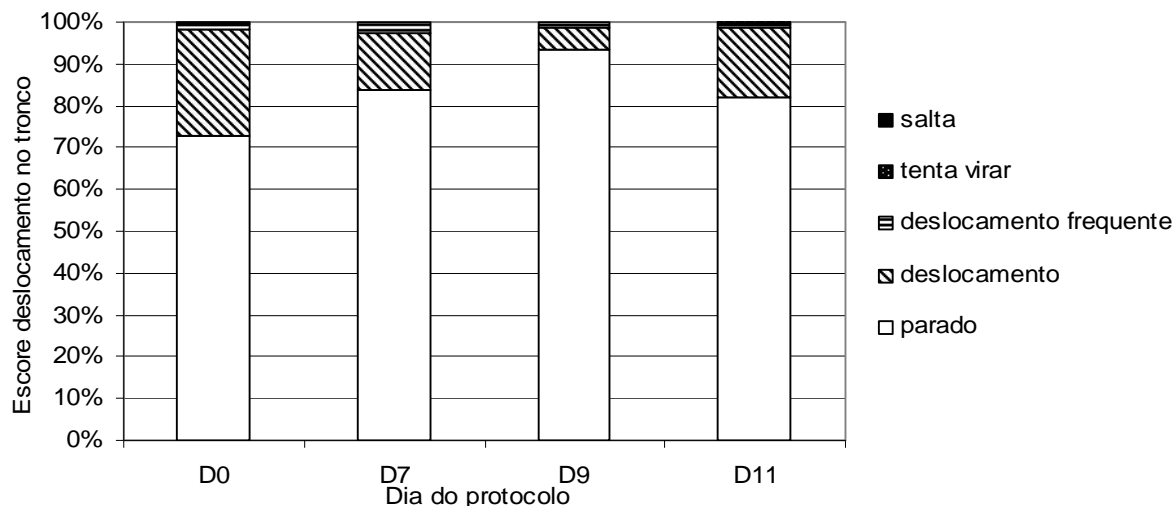


Figura 5 Porcentagem de observação dos escores de deslocamento no tronco de contenção em vacas de corte (Nelore) durante manejos sucessivos em um protocolo de Inseminação artificial em tempo fixo. Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Friedman em nível de significância de 5%.

Estes resultados demonstram que a reatividade destes animais aumentou no decorrer do protocolo. O que pode ser explicado pelo reconhecimento da capacidade dos animais em distinguir lugares, pessoas e objetos já evidenciado (BADDELEY, 1999). Portanto, as vacas podem lembrar de manejos sofridos anteriormente e, desta forma, aumentar sua reatividade em decorrência do medo aprendido que é definido segundo Boissy *et al.* (2005) como sendo a expressão da interação entre as experiências prévias dos animais e sua genética.

No primeiro dia do protocolo é colocado o implante intra-vaginal de progesterona, este procedimento provavelmente é doloroso e incomodo. Além disso, se mal posicionado pode ocorrer incomodo durante os dias subseqüentes, o que pode ocasionar nas vacas uma forma de aprendizado chamada sensibilização que ocorre quando existe um aumento da resposta depois de repetidos estímulos ao longo do tempo (FRASER e BROOM, 1990; BROOM e JOHNSON, 1993). A sensibilização ocorre principalmente se o estímulo for nocivo ou debilitante (BROOM e JOHNSON, 1993). Provavelmente o impacto inicial do manejo juntamente com este procedimento ocasionou o aumento da reatividade a partir do segundo dia de manejo (D7), seria interessante a realização de estudos a fim de verificar se o uso de anestésicos locais neste procedimento minimizaria os efeitos observados sobre a reatividade dos animais.

Uma vez aprendido que uma determinada situação é aversiva, sempre que se depararem com algo similar sentirão medo, o que dificultaria manejos posteriores (PAJOR *et*

*al*, 2000; BREUER *et al*, 2003). Com isso ocorre uma resposta aprendida que desencadeará todos os mecanismos fisiológicos comuns à demanda de fuga: o aumento dos batimentos cardíacos, tensão muscular e secreção de adrenalina pelas adrenais (CARLSON, 2002).

O aumento da reatividade após manejos sucessivos pode ter sido causado por um processo de sensibilização, uma vez que os escores de avaliação visual aumentam quase que linearmente com o decorrer do protocolo.

A velocidade de fuga quando avaliada em classe (Figura 6) foi significativamente maior do D7 em diante podendo desta forma verificar o aumento na reatividade dos animais no decorrer dos manejos sucessivos, o escore composto de reatividade (Figura 7) também foi menor no primeiro dia diferindo significativamente do último, desta forma pode-se verificar que os animais se lembram dos manejos sofridos anteriormente.

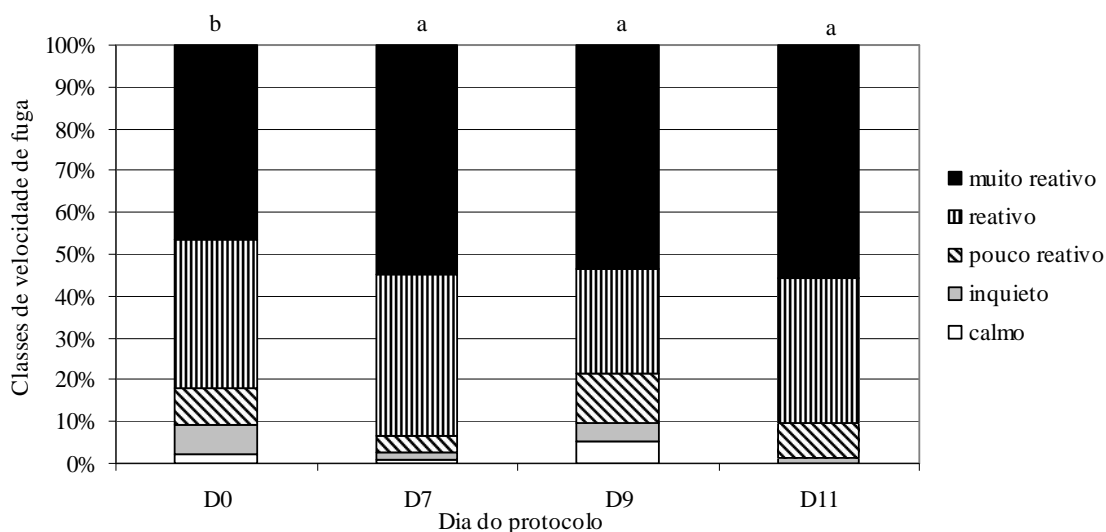


Figura 6 Porcentagem de vacas nas diferentes classes de velocidade de fuga em vacas de corte (Nelore) durante manejos sucessivos em um protocolo de Inseminação artificial em tempo fixo. Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Friedman em nível de significância de 5%.

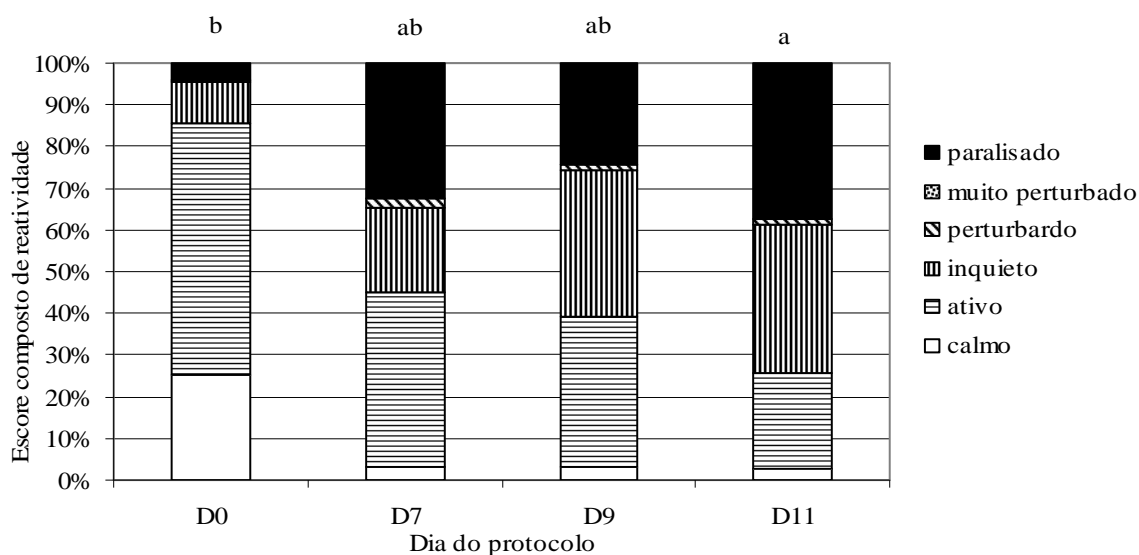


Figura 8 Porcentagem de vacas nas diferentes classes do escore composto de reatividade em vacas de corte (Nelore) durante manejos sucessivos em um protocolo de Inseminação artificial em tempo fixo. Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Friedman em nível de significância de 5%.

## CONCLUSÕES

O aumento da reatividade ao longo do protocolo demonstrou que houve um aprendizado decorrente dos manejos sucessivos durante protocolo de IATF, que resulta em respostas associadas ao medo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILAR, N.M.A. **Avaliação da reatividade de bovinos de corte e sua relação com caracteres reprodutivos e produtivos**. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho- UNESP, Jaboticabal – SP, 2007. 80p.
- BADDELEY, A. **Memória humana. Teoria y prática**. Madrid: Mc Graw Hill, 1999. 520p.
- BOISSY et al. Genetics of fear in ruminant livestock. **Livestock Production Science**, v.93, p. 23–32, 2005.
- BREUER, K., HEMSWORTH, P.H., COLEMAN, C.J. The effect of positive or negative handling on the behavioural and physiological responses of nonlactating heifers. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 84 , p. 3-22, 2003.

- BROOM, D.M., JOHNSON, K.G. Stress and animal welfare. London: Chapman & Hall, 1993. 211p.
- BURROW, H. M. Measurements of temperament and their relationships with performance traits of beef cattle. **Animal Breeding Abstracts**, United Kingdom, v.65, n.7, p.477- 495, 1997.
- CUNNINGHAM J.G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 3ed. São Paulo:Guanabara Koogan, 2004. 580 p.
- CARLSON, N. R. **Fisiologia do comportamento**. 7ed. Barueri-SP:Manole, 2002. 699p.
- FRASER, A.F., BROOM, D.M. **Farm animal behaviour and welfare**. 3ed. London: Baillière Tindall, 1990. 437p.
- FERREIRA, A.B.H. **Novo dicionário aurélio**. 3 ed: Manole - Positivo, 2004. 2120p.
- FORDYCE, G., GODDARD, M. E., SEIFERT, G. W. The measurement of temperament in cattle and the effect of experience and genotype. **Australian Society Animal Production**. v.14, p. 329-32, 1982.
- FORDYCE, G.; BURROW, H. M. Temperament of *Bos indicus* bulls and its influence on reproductive efficiency in the tropics. In: WORKSHOP BULL FERTILITY, v. 1, 1992, **Proceedings...**Rockhampton, p. 35 – 37, 1992.
- GRANDIN, T.; DEESING, M. J. **Genetics and the behaviour of domestic animals**. San Diego-California:Academic Press, 1998. 356p.
- PAJOR, E.A.; RUSHEN, J.; DE PASSILLÉ, A.M.B. Aversion learning techniques to evaluate dairy cattle handling practices. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 69, p.89–102, 2000.
- PETERS, M.D.P. **Manejo aversivo em bovinos leiteiros e efeitos no bem-estar, comportamento e aspectos produtivos**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas – RS, 2008. 61P.
- PIOVEZAN, U **Análise de fatores genéticos e ambientais na reatividade de quatro raças de bovinos de corte ao manejo**. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias / UNESP, Jaboticabal - SP, 1998. 50p.
- ROSA, M.S. **Ordenha sustentável: a interação retireiro-vaca**. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias / UNESP, Jaboticabal - SP, 2004. 52p.
- RUEDA P.M.; COSTA E SILVA, E.V.; PASSOS, T.S.; RUSSI, L.S.; DIAS, F.C.F; STUPP,W.; ZÚCCARI, C.E.S.N. Reatividade de fêmeas bovinas e eficiência reprodutiva em inseminação artificial – Resultados Preliminares. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42, 2005. Goiânia - GO. **Anais...** CD-ROM.

SIEGEL, S.; CASTELAN JUNIOR, N.J. **Estatística não-paramétrica para ciências do comportamento**. 2ed. São Paulo:Artimed. 2006. 448p.