



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**MASSAGEM DESSENSIBILIZADORA E MÚSICA REDUZEM O ESTRESSE E
AUMENTAM A PRODUTIVIDADE DE VACAS DE LEITE**

Karine Keyzy dos Santos Lemes Lechuga

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal.

Dourados - MS

Fevereiro, 2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**MASSAGEM DESSENSIBILIZADORA E MÚSICA REDUZEM O ESTRESSE E
AUMENTAM A PRODUTIVIDADE DE VACAS DE LEITE**

Karine Keyzy dos Santos Lemes Lechuga

Médica Veterinária

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Fabiana Ribeiro Caldara

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Fernanda de
Castro Burbarelli

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Zootecnia da Universidade
Federal da Grande Dourados, como parte das
exigências para obtenção do título de Mestre em
Zootecnia.

Dourados - MS

Fevereiro, 2023

**MASSAGEM DESSENSIBILIZADORA E MÚSICA REDUZEM O
ESTRESSE E AUMENTAM A PRODUTIVIDADE DE VACAS DE LEITE**


Por

KARINE KEYSY DOS SANTOS LEMES LECHUGA


Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção
do título De MESTRE EM ZOOTECNIA

Aprovado em: 01/03/2023


Banca examinadora

Documento assinado digitalmente
 **FABIANA RIBEIRO CALDARA**
Data: 02/03/2023 09:13:12-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Dra. Fabiana Ribeiro Caldara
Orientadora – UFGD

Documento assinado digitalmente
 **IBIARA CORREIA DE LIMA ALMEIDA PAZ**
Data: 02/03/2023 11:36:47-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Dra. Ibiara Correia de Lima Almeida Paz
UNESP

Documento assinado digitalmente
 **VIVIANE MARIA OLIVEIRA DOS SANTOS NIE**
Data: 02/03/2023 12:13:40-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Dra. Viviane Maria Oliveira dos Santos
UFMS

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

L551m Lemes, Karine Keyzy Dos Santos
MASSAGEM DESSENSIBILIZADORA E MÚSICA REDUZEM O ESTRESSE E
AUMENTAM A PRODUTIVIDADE DE VACAS DE LEITE [recurso eletrônico] / Karine Keyzy
Dos Santos Lemes. -- 2024.
Arquivo em formato pdf.

Orientador: Fabiana Ribeiro Caldara.

Coorientadora: Maria Fernanda de Castro Burbarelli.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2024.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Bovinocultura leiteira. 2. Enriquecimento ambiental. 3. Interação homem animal. 4.
serotonina. I. Caldara, Fabiana Ribeiro. II. Burbarelli, Maria Fernanda De Castro. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.

Dedicatória

Toda dedicação a minha companheira de vida, Jackeline Lechuga.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e orixás por terem me dado perseverança e força, nessa jornada desconhecida, sempre me conduzindo no melhor caminho.

À minha companheira de vida e amiga, Jackeline Lechuga, pela paciência e companheirismo ao longo de todos esses anos, e ainda mais, ao longo dessa nova experiência de aprender que ambas iniciamos durante o ano pandêmico. Obrigada esposa por sempre estar ao meu lado, por acreditar em mim, segurar minhas mãos, ser meu consolo nos dias difíceis, minha alegria nos dias em que eu não aguentava mais e minha terapia diária, sempre me apoiando e me incentivando em todas as minhas escolhas e conquistas. Eu amo você para todo o sempre!

À minha orientadora, Dra. Fabiana Ribeiro Caldara por ser paciente, por ter confiado em mim nesse experimento, quando ninguém mais confiou. Obrigada Dra., por ser meu exemplo, por cada palavra, cada proposta que me foi feita e cada socorro que me foi dado. Esse experimento foi um presente de confiança que a senhora me deu!!

À minha coorientadora Profa. Dra. Maria Fernanda de Castro Burbarelli, pela imensa ajuda na realização das análises estatísticas, me auxiliando em todo o processo, pelas conversas acadêmicas e reuniões infinitas, explanações que fizeram total diferença durante minha escrita. Obrigada professora, toda minha gratidão!

Ao Prof. Dr. Rodrigo Garófallo Garcia, Prof. Dr. Fernando Vargas Junior, pelo carinho, esclarecimentos de dúvidas e sugestões.

À UFGD e todos os professores por serem exemplos de profissionais.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida nesses dois anos.

Gratidão, *Patakori* Ogum!

SUMÁRIO

| | Pg. |
|---|-----|
| RESUMO..... | 01 |
| ABSTRACT..... | 02 |
| 1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS..... | 03 |
| 2. OBJETIVOS..... | 05 |
| 2.1. Objetivos gerais..... | 05 |
| 2.2. Objetivos específicos..... | 05 |
| CAPÍTULO 1. REVISÃO DE LITERATURA | 06 |
| 1 Características comportamentais de bovinos..... | 07 |
| 2 Mecanismos de ejeção do leite..... | 08 |
| 3 Interação entre homem e vaca leiteira e efeitos de estímulos táteis..... | 11 |
| 4 Enriquecimento Ambiental Sonoro (Música) na produção animal..... | 13 |
| Referências Bibliográficas..... | 17 |
| CAPÍTULO 2. Massagem dessensibilizadora e música durante ordenha influenciam o bem-estar e produtividade de vacas leiteiras | 24 |
| RESUMO..... | 25 |
| ABSTRACT..... | 26 |
| 1. INTRODUÇÃO | 27 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS..... | 28 |
| 2.1 Local e caracterização da propriedade na rotina de manejos..... | 28 |
| 2.2 Animais e Delineamento experimental..... | 29 |
| 2.3 Massagem dessensibilizadora..... | 30 |
| 2.4 Estímulo sonoro (Música)..... | 31 |
| 2.5 Avaliações..... | 32 |
| 2.5.1 Produção, leite residual e tempo de ordenha..... | 32 |
| 2.5.2 Presença de mastite subclínica (Teste CMT) | 32 |
| 2.5.3 Frequência respiratória, temperatura ocular e temperatura superficial do úbere..... | 33 |
| 2.5.4 Comportamento na sala de ordenha..... | 34 |
| 2.5.5 Teste de abordagem forçada do animal..... | 34 |

| | | |
|-------|---|----|
| 2.5.6 | Níveis séricos de serotonina..... | 35 |
| 2.6 | Análises Estatísticas..... | 35 |
| 3 | RESULTADOS..... | 36 |
| 3.1 | Produção, leite residual e tempo de ordenha..... | 36 |
| 3.2 | Presença de mastite subclínica (Teste CMT) | 37 |
| 3.3 | Frequência respiratória, temperatura ocular e temperatura superficial do úbere..... | 37 |
| 3.4 | Comportamento das vacas na sala de ordenha..... | 38 |
| 3.5 | Teste de abordagem forçada do animal..... | 39 |
| 3.6 | Níveis séricos de serotonina..... | 40 |
| 4. | DISCUSSÃO..... | 41 |
| 5. | CONCLUSÕES..... | 47 |
| 6. | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 48 |
| | CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 54 |

ÍNDICE DE TABELAS

| | Pg. |
|--|-----|
| Tabela 1. Técnicas de dessensibilização utilizadas no manejo de vacas leiteiras | 30 |
| Tabela 2. Etograma utilizado para avaliação das vacas leiteiras durante ordenha..... | 32 |
| Tabela 3. Produção de leite, leite residual e tempo de ordenha de vacas expostas ou não à massagem dessensibilizadora e/ou música durante a ordenha..... | 36 |
| Tabela 4. Escore de mastite subclínica de vacas expostas ou não à massagem dessensibilizadora e/ou música durante a ordenha..... | 37 |
| Tabela 5. Frequência respiratória, temperatura ocular e temperatura superficial do úbere de vacas expostas ou não à massagem dessensibilizadora e/ou música durante a ordenha..... | 37 |
| Tabela 6. Frequência comportamental de vacas expostas ou não à massagem dessensibilizadora e/ou música durante a ordenha..... | 38 |
| Tabela 7. Distância de fuga (m) durante teste de abordagem forçada de vacas expostas ou não à massagem dessensibilizadora e/ou música durante ordenha..... | 39 |
| Tabela 8. Níveis séricos de serotonina (ng/ml) de vacas expostas ou não à massagem dessensibilizadora e/ou música durante a ordenha..... | 40 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| CAPÍTULO 1 | Pg. |
|---|-----|
| <p>Figura 1. Reflexos neuro-hormonais da ejeção do leite: presença de estímulos (A), nos quais a vaca associa ao momento de ordenha e origina um impulso nervoso (B) via nervo inguinal (1) enviado a medula (2) e ao cérebro (3); a neurohipófise (C) transporta ocitocina (D) em uma rama da veia jugular (4); o hormônio ocitocina chega ao coração (5), e é distribuído por todo o organismo pelo sangue arterial, alcançando o úbere, passando pelo coração e pela aorta (6); a ocitocina penetra nas glândulas mamárias pelas artérias pudendas externas (7) causando a contração das células mioepiteliais e conseqüentemente a ejeção do leite fora dos alvéolos.....</p> | 09 |
| | |
| CAPÍTULO 2 | |
| <p>Figura 1. Massagem dessensibilizadora sendo aplicada nas vacas durante a ordenha</p> | 31 |
| <p>Figura 2. Colheita de amostras de leite e realização do California Mastite Teste ®</p> | 32 |
| <p>Figura 3. Imagem termográfica do úbere com pontos marcados para determinação da temperatura superficial média (A) e imagem termográfica ocular com ponto de temperatura máxima selecionado (B).....</p> | 33 |
| <p>Figura 4. Desdobramento da interação ($p=0.0026$) entre efeitos da música ao longo do tempo sobre a distância de fuga (m) dos animais.....</p> | 40 |
| <p>Figura 5. Níveis séricos de serotonina (ng/ml) iniciais e quatro semanas após a exposição à massagem dessensibilizadora e/ou música em vacas durante a ordenha. Valores seguidos de * diferem do controle ao teste T de dados pareados ($p<0.0001$).....</p> | 41 |

LECHUGA, K.K.S.L. 2023. 62p. Massagem dessensibilizadora e música reduzem o estresse e aumentam a produtividade de vacas de leite. **Dissertação (mestrado)** Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

RESUMO

Na bovinocultura leiteira, a forte interação entre homem e animal, especialmente durante o manejo de ordenha, pode influenciar diretamente o bem-estar e aspectos ligados a produção. Nesse contexto, boas práticas de manejo, associadas à utilização de estímulos táteis e auditivos podem auxiliar na obtenção de melhores resultados. Assim, o objetivo com esse estudo foi avaliar os efeitos da massagem dessensibilizadora e de estímulos musicais durante a ordenha sobre parâmetros produtivos, fisiológicos, sanitários e de bem-estar de vacas leiteiras. O experimento foi conduzido em uma propriedade comercial caracterizada por baixa produção leiteira. Para isso, foram utilizadas 40 vacas leiteiras mestiças, com idade e peso corporal variando entre 36 e 42 meses e 350 a 400 kg, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2, nos seguintes tratamentos: (Con) - vacas não expostas aos estímulos; (Mas) - vacas expostas à massagem durante ordenha; (Mus) - vacas expostas à música durante ordenha; (Mas+Mus) - vacas expostas a ambos os estímulos durante ordenha. Foram elegidas para a pesquisa músicas clássicas com andamento Andante (75 a 107 BPM) e Andante Moderato (90 a 100 BPM) e a massagem realizada no dorso e úbere das fêmeas imediatamente após a entrada na sala de ordenha. O experimento teve duração de 39 dias, sendo os 10 primeiros dias de adaptação animal e 29 dias para coleta de dados após a introdução dos estímulos sensoriais. Vacas que não foram expostas a nenhum dos estímulos apresentaram quantidade de leite residual até 41% superior àquelas que receberam apenas um dos estímulos ou ambos associados. A utilização de massagem durante a ordenha promoveu aumento da frequência respiratória, do tempo de ordenha e de escores de mastite subclínica. Vacas expostas à Mas+Mus apresentaram maior temperatura ocular em relação àquelas que receberam apenas massagem, além de menor distância de fuga em relação aos demais tratamentos. O estímulo sonoro promoveu o aumento de gotejamento de leite antes do início da ordenha. Vacas que receberam os estímulos apresentaram níveis mais elevados de serotonina, com indicativo de efeito aditivo entre os fatores de enriquecimento ambiental. A utilização de massagem dessensibilizadora e de música durante a ordenha foram eficazes na redução da reatividade de vacas em relação aos seres humanos e promoveram melhorias no bem-estar e na produtividade. Ambas as técnicas associadas podem promover efeitos aditivos na produtividade leiteira, entretanto, alguns cuidados sanitários devem ser tomados em relação aos equipamentos utilizados para estímulos táteis.

Palavras-chave: Bovinocultura leiteira, enriquecimento ambiental, interação homem-animal; serotonina.

LECHUGA, K.K.S.L. 2023. 62p. Desensitizing massage and music reduce stress and increase dairy cows' productivity. Dissertation (Master's) Faculty of Agrarian Sciences, Federal University of Grande Dourados (UFGD).

ABSTRACT

In dairy cattle farming, the strong interaction between humans and animals, especially during milking management, can directly influence well-being and aspects related to production. In this context, good management practices, combined with the use of tactile and auditory stimuli, can help achieve better results. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effects of desensitizing massage and musical stimuli during milking on productive, physiological, sanitary, and welfare parameters of dairy cows. The experiment was conducted on a commercial farm characterized by low milk production. Forty crossbred dairy cows, ranging in age and body weight from 36 to 42 months and 350 to 400 kg, were randomly allocated in a 2x2 factorial design to the following treatments: (Con) - cows not exposed to stimuli; (Mas) - cows exposed to massage during milking; (Mus) - cows exposed to music during milking; (Mas+Mus) - cows exposed to both stimuli during milking. Classical music with Andante (75 to 107 BPM) and Andante Moderato (90 to 100 BPM) tempos was selected for the study, and the massage was performed on the back and udder of the females immediately after entering the milking parlor. The experiment lasted for 39 days, with the first 10 days for animal adaptation and 29 days for data collection after the introduction of sensory stimuli. Cows not exposed to any stimuli showed residual milk quantity up to 41% higher than those that received only one of the stimuli or both combined. The use of massage during milking increased respiratory rate, milking time, and subclinical mastitis scores. Cows exposed to Mas+Mus showed higher ocular temperature compared to those that received only massage, as well as shorter flight distance compared to the other treatments. The sound stimulus increased pre-milking milk dripping. Cows that received the stimuli had higher levels of serotonin, indicating an additive effect of environmental enrichment factors. The use of desensitizing massage and music during milking was effective in reducing cows' reactivity to humans and promoting improvements in well-being and productivity. Both techniques, when combined, can have additive effects on milk productivity; however, certain sanitary precautions must be taken regarding the equipment used for tactile stimuli.

Keywords: Dairy cattle; environmental enrichment, human-animal interaction; serotonin

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O bem-estar dos animais de fazenda tem se tornado uma preocupação crescente para os consumidores, refletindo-se em legislações cada vez mais rigorosas que regulam as práticas de produção. A adoção de boas práticas e métodos suaves de manejo é fundamental não apenas para melhorar o bem-estar dos animais, mas também para aumentar a produtividade e a sustentabilidade. Essa abordagem está diretamente relacionada ao desenvolvimento econômico, à conservação ambiental e, especialmente, aos sistemas de produção leiteira (ROCHA; CARVALHO; RESENDE., 2020; SANTOS; NEVES; RIBEIRO, 2021).

Na bovinocultura leiteira, o contato intenso e diário entre humanos e animais durante as atividades de rotina, como ordenha, alimentação e cuidados sanitários, pode impactar significativamente a qualidade de vida tanto dos animais quanto dos tratadores (HONORATO *et al.*, 2012).

O medo dos animais em relação aos humanos, ao ambiente ou a objetos desconhecidos torna o manejo difícil e perigoso, tanto para os animais quanto para os tratadores. Portanto, é importante adotar práticas de manejo que reduzam o estresse e promovam interações positivas entre os manejadores e as vacas. Isso contribui para o aumento do bem-estar dos animais e dos trabalhadores, uma vez que vacas menos estressadas são mais fáceis de serem manejadas. É fundamental aplicar boas práticas de manejo, o que resulta em uma redução da reatividade animal. Nesse sentido, o contato físico entre tratador e animal, por meio de toques, carícias, escovação ou massagem, pode ser positivo para estabelecer confiança e criar uma conexão entre ambos (HONORATO *et al.*, 2012).

A interação entre humanos e vacas não apenas influencia a produção leiteira, mas também pode afetar os parâmetros de qualidade do leite, como seus níveis de gordura e proteína (HEMSWORTH *et al.*, 2000; HEMSWORTH, 2003) e estudos têm demonstrado que certas práticas de manejo, como massagens no úbere durante o final da gestação, podem melhorar esses aspectos, especialmente em vacas primíparas (BRAGA *et al.*, 2020).

As vacas possuem a audição altamente desenvolvida e respondem de forma positiva a estímulos sonoros agradáveis. Eles reconhecem quando são chamadas pelo nome, reagem ao mugido de seus bezerros e a outros sons familiares, incluindo os sinais dos tratadores (SANT'ANNA; PEDROSA; PARANHOS DA

COSTA, 2018). Há evidências de que a reprodução de música para as vacas resulta em um aumento na produção de leite em comparação aos sons produzidos durante a ordenha, embora existam poucas pesquisas que comprovem esse efeito. Esse aumento na produção pode estar relacionado a propriedades específicas da música que estimulam o cérebro dos animais e promovem a liberação de ocitocina. No entanto, a escolha adequada da música utilizada é crucial, pois pode afetar a secreção de neurotransmissores excitatórios ou inibitórios no Sistema Nervoso Central (HAO *et al.*, 2020; SANTOS; RITA; SILVA, 2022).

No Brasil, a maioria dos rebanhos leiteiros é composta por vacas mestiças de origem zebuína, que frequentemente enfrentam dificuldades de adaptação à ordenha mecânica, sendo necessário a presença e o estímulo do bezerro durante o processo para promover a descida do leite (BRAGA *et al.*, 2020). Nas propriedades leiteiras, é comum o uso de ocitocina exógena, um hormônio neuropeptídeo essencial para a manutenção da lactação e controle da ejeção do leite, seja no sistema de ordenha mecânica ou manual. A liberação e o tempo de ação desse hormônio são essenciais para garantir uma ordenha completa e eficiente. No entanto, a aplicação exógena da ocitocina representa um custo adicional para os produtores, além de ter potenciais efeitos adversos, como edemas, abscessos, dor e alterações fisiológicas e comportamentais (CHEN e SATO, 2017). Portanto, é importante adotar práticas de manejo que estimulem a produção endógena desse hormônio, reduzindo a necessidade de sua aplicação. O uso de técnicas que reduzem o medo e associam a ordenha a eventos agradáveis, como o contato tátil ou a escovação, pode estimular a secreção de ocitocina em níveis semelhantes aos obtidos com a aplicação exógena (CAVINATTO, 2020).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar os efeitos desencadeados por estímulos táteis e sonoros utilizados de forma individual ou associados, em vacas leiteiras durante a ordenha, nos parâmetros produtivos, comportamentais e de bem-estar.

2.2. Objetivos Específicos

Avaliar os efeitos de estímulos táteis (massagem dessensibilizadora) e sonoros (música) durante a ordenha sobre:

- 1) Produção diária leite, leite residual e tempo de ordenha;
- 2) Comportamento durante a ordenha e distância de fuga
- 3) Indicadores fisiológicos de bem-estar e saúde: frequência respiratória, temperatura ocular e do úbere
- 4) Escore de mastite subclínica
- 5) Níveis séricos de serotonina

CAPÍTULO 1

REVISÃO DE LITERATURA

1. Características comportamentais de bovinos

A cadeia produtiva do leite tem desempenhado um papel significativo na geração de milhões de empregos, tanto no setor rural quanto no industrial, sendo uma das principais atividades econômicas do Brasil. O valor nutritivo do leite o torna um dos produtos mais importantes da agropecuária (ROCHA; CARVALHO; RESENDE, 2020). Para promover o aumento dos índices produtivos na bovinocultura, é recomendado o conhecimento histórico e econômico do setor, assim como a compreensão do comportamento animal, com ênfase no bem-estar (REZENDE *et al.*, 2021).

O comportamento dos bovinos pode ser dividido em três categorias principais: social, reprodutivo e digestivo (COSTA *et al.*, 2017). Dentre essas categorias, o comportamento social exerce maior influência direta ou indireta sobre os demais. Os bovinos têm hábitos gregários e vivem em rebanhos, sendo o comportamento de um indivíduo influenciado pelo comportamento dos demais, e eles possuem a capacidade de reconhecer e distinguir outros 50 a 70 indivíduos através de características físicas e comportamentais (FRASER e RYBCZYNSKI, 2014).

A linguagem visual desempenha um papel crucial na comunicação dos bovinos, uma vez que os mamíferos herbívoros possuem olhos grandes e visão panorâmica de 320°, o que os ajuda a se protegerem de predadores na natureza. A linguagem visual e corporal dos bovinos envolve movimentos do corpo, especialmente da cabeça, que desempenham um papel importante na demonstração de agressividade ou submissão. Quanto às vocalizações, elas não parecem ser específicas para situações, mas indicam o grau de excitação e interesse do animal (COSTA *et al.*, 2017), sendo frequentemente observadas em situações de frustração, estresse e dor (BOUISSOU *et al.*, 2001).

O temperamento é uma das características de personalidade mais relevantes nos bovinos, e está relacionado à resposta comportamental ou psicológica do animal ao longo do tempo e em diferentes contextos. O temperamento pode ser avaliado por indicadores comportamentais e indicar a tendência de um animal ser mais ou menos reativo, feroz, curioso, dócil, vigilante, medroso, teimoso, entre outras características. O temperamento influencia a percepção e a resposta do animal a diferentes situações (COSTA *et al.*, 2017). A reatividade é a manifestação mais visível do temperamento, e pode ser facilmente influenciada pelo medo do

animal diante de perigos iminentes que ameacem sua integridade, desempenhando um papel importante na prevenção de situações potencialmente perigosas (ADAMCZYK *et al.*, 2013). Além das diferenças de reatividade entre raças, há também variações comportamentais entre indivíduos da mesma raça, especialmente nos bovinos leiteiros, onde o temperamento durante a ordenha é de grande importância (COSTA *et al.*, 2017).

A observação do tempo dedicado às atividades das vacas é uma ferramenta fundamental na análise do bem-estar animal. Especificamente, as vacas demonstram preferência por deitar-se em uma cama seca durante 12 a 14 horas por dia, passando a maior parte desse tempo ruminando enquanto o organismo trabalha fisiologicamente na produção de leite. O tempo dedicado à alimentação é em média de 5 horas, enquanto 2 a 3 horas são destinadas à ingestão de água, caminhadas e interações sociais. Cerca de 1 hora é gasta ruminando em pé, e as vacas geralmente toleram ficar presas em um mesmo ambiente por aproximadamente 3 horas por dia sem sofrer estresse (GONZÁLEZ, 2021).

2. Mecanismos de Ejeção do Leite

A amamentação relaciona-se a uma série de fatores físicos, hormonais e neurológicos responsáveis por desencadear e facilitar a ejeção do leite. Compreender esses mecanismos é essencial para promover a saúde e o bem-estar tanto das mães quanto das crias, além de contribuir para a produção eficiente de leite em animais de interesse econômico. O processo fisiológico da ejeção do leite é um reflexo instintivo que ocorre de forma involuntária no animal, sendo desencadeado pela ativação de um mecanismo neuroendócrino, que culmina com a liberação de ocitocina na corrente sanguínea (PRESTES e LANDIM-ALVARENGA, 2017).

No ano de 1910, dois pesquisadores chamados Ott e Scott descobriram que um extrato da hipófise posterior podia aumentar o fluxo de leite expelido do úbere da vaca. Em 1915, Gaines observou que esse extrato também aumentava a pressão intramamária. Mais tarde, em 1941, outros dois pesquisadores, Ely e Peterson, concluíram que a ejeção do leite era um reflexo neuroendócrino. Petersen e Ludwick (1942) observaram que uma substância encontrada no sangue, a qual denominaram ocitocina, promovia a contração das células mioepiteliais alveolares. A partir desse

ponto, foram conduzidos diversos estudos com o objetivo de identificar os mecanismos envolvidos na estimulação e ejeção do leite.

Ely e Peterson (1941) foram os primeiros a descrever o reflexo neuro-hormonal da ejeção do leite (Figura 1). Os autores demonstraram que o estímulo sensorial dos tetos desempenha um papel importante na ativação dos mecanismos neurais que desencadeiam a ejeção do leite. Os impulsos nervosos gerados pela sucção do filhote são transmitidos para o hipotálamo, que por sua vez promove a liberação da ocitocina pelo lóbulo anterior da hipófise.

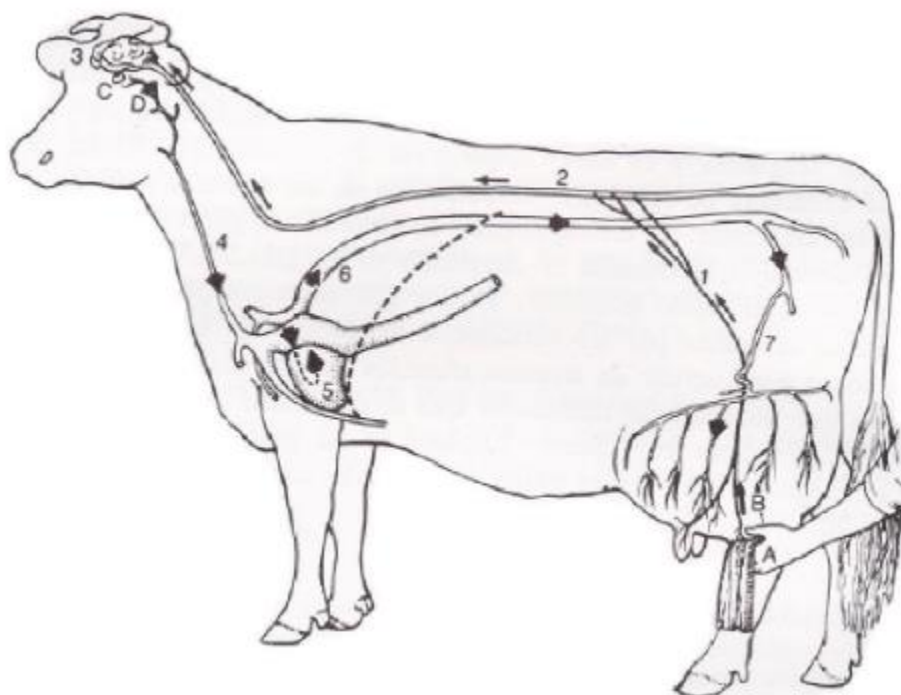


Figura 1. Reflexos neuro-hormonais da ejeção do leite: presença de estímulos (A), nos quais a vaca associa ao momento de ordenha e origina um impulso nervoso (B) via nervo inguinal (1) enviado a medula (2) e ao cérebro (3); a neurohipófise (C) transporta ocitocina (D) em uma rama da veia jugular (4); o hormônio ocitocina chega ao coração (5), e é distribuído por todo o organismo pelo sangue arterial, alcançando o úbere, passando pelo coração e pela aorta (6); a ocitocina penetra nas glândulas mamárias pelas artérias pudendas externas (7) causando a contração das células mioepiteliais e conseqüentemente a ejeção do leite fora dos alvéolos. Fonte: SCHMIDT (1974).

A liberação da ocitocina ocorre em resposta a sinais emocionais positivos associados à amamentação, como o contato físico com o filhote e o estabelecimento do vínculo mãe-filhote, provocando a contração das células mioepiteliais que envolvem os alvéolos, levando liberação do leite armazenado nos alvéolos para os ductos (PRESTES e LANDIM-ALVARENGA, 2017). Além disso, a ativação do mecanismo neuroendócrino de reflexo de ejeção do leite pode ser influenciada por diferentes fatores, os quais variam entre as espécies mamíferas. Um desses fatores é a capacidade de liberar ocitocina em resposta a estímulos externos, como a visão, o olfato e/ou o som do bezerro mamando ou do local da ordenha. Algumas evidências sugerem que esses estímulos geralmente se transformam em reflexos "condicionados" de ejeção do leite, especialmente quando uma rotina regular de ordenha é adotada (HAMANN e DODD, 1992).

A ejeção do leite em resposta à estimulação tátil e o aumento da pressão intramamária ocorrem dentro de um intervalo de tempo de 30 a 60 segundos. No entanto, é importante ressaltar que essa resposta hormonal tem curta duração, variando de 5 a 7 minutos. Portanto, é crucial realizar a ordenha o mais rápido possível após o estímulo, a fim de evitar o acúmulo de leite residual (VENTURINI *et al.*, 2007). Além disso, é necessário que este manejo seja realizado de forma a minimizar o estresse dos animais, uma vez que a liberação de adrenalina e de ocitocina desempenharão papel crucial na eficiência e no resultado da ordenha.

Quando um animal é exposto a situações estressantes, o sistema nervoso simpático é ativado, desencadeando a liberação de adrenalina na corrente sanguínea, que causa vasoconstrição nas glândulas mamárias, reduzindo o fluxo sanguíneo e, assim, a disponibilidade de oxigênio e nutrientes essenciais para as células mamárias e ocitocina nas células mioepiteliais (FARIA, 2013). Além disso, a adrenalina interfere diretamente na ação da ocitocina, uma vez que atua como antagonista fisiológico da ocitocina ocupando os receptores nas células mioepiteliais. Portanto, o estresse durante a ordenha, ao induzir a liberação de adrenalina, pode inibir a ação da ocitocina e, conseqüentemente, comprometer a ejeção adequada do leite. Isso resulta em um aumento do leite residual nas glândulas mamárias e uma diminuição na quantidade de leite extraído durante o processo de ordenha (BOSELLI *et al.*, 2020).

Além disso, o estresse crônico durante a lactação pode levar a níveis elevados de cortisol, outro hormônio do estresse, associado à redução na ejeção do leite, tornando a ordenha menos eficiente (ARCARO JUNIOR *et al.*, 2003).

3. Interação entre homem e vaca leiteira e efeitos de estímulos táteis

Para garantir uma ordenha adequada e eficiente, é fundamental minimizar o estresse durante esse processo. Isso pode ser alcançado por meio de um manejo cuidadoso e adequado, proporcionando um ambiente tranquilo, confortável e familiar para o animal. A redução do estresse contribui para a liberação adequada de ocitocina, favorecendo a ejeção do leite e melhorando a produção leiteira

Os estudos relacionados ao bem-estar dos animais de produção desempenham um papel crucial na busca por técnicas gentis que levem em consideração as necessidades dos animais. Essas pesquisas contribuem para a evolução das práticas agrícolas, promovendo uma relação ética entre humanos e animais (VASSEUR *et al.*, 2010; BURTON *et al.*, 2012; SORGE; CHERRY; BENDER, 2014).

No contexto específico da bovinocultura leiteira, a interação entre humanos e animais assume uma importância significativa, uma vez que as vacas em lactação estão constantemente em contato com os seres humanos (BURTON *et al.*, 2012). Esse aspecto ganha relevância também quando consideramos a perspectiva da produtividade (BURTON *et al.*, 2012).

Segundo Odeón e Romera (2017), vacas leiteiras que são expostas a situações de estresse físico, estresse social (como quando são separadas de outros animais da mesma espécie) e estresse relacionado ao manejo inadequado, como a retirada de bezerros, transporte impróprio ou instalações ruidosas, experimentam não apenas o estresse em si, mas também sentimentos de medo. Esses fatores têm consequências negativas no funcionamento do sistema imunológico, aumentando a suscetibilidade a doenças, reduzindo o consumo de ração, afetando a produção leiteira, inibindo a liberação de ocitocina e comprometendo a fertilidade.

Dessa forma, é essencial adotar práticas de manejo que promovam o bem-estar dos animais, reduzindo o estresse e fornecendo um ambiente adequado. Isso inclui medidas como um manuseio cuidadoso, proporcionar condições sociais adequadas e instalações que minimizem o desconforto acústico. Ao atender às

necessidades emocionais e físicas das vacas leiteiras, é possível melhorar sua saúde, bem-estar e desempenho produtivo.

O termo "estresse" é usado para descrever situações imprevistas que envolvem a perda de controle (KOOLHAAS *et al.*, 2011). Em propriedades onde os ordenhadores frequentemente adotam práticas negativas, os animais acabam demonstrando reações de medo e estresse em relação aos humanos, o que resulta em impactos negativos na produção de leite (SANT'ANNA; PEDROSA; PARANHOS DA COSTA., 2018). Relatos anteriores indicam que a presença de ordenhadores com comportamentos agressivos na sala de ordenha leva ao aumento da agitação e reatividade dos animais, ambos indicadores de situações estressantes (OLIVEIRA *et al.*, 2014). Portanto, a compreensão por parte do homem em relação às suas próprias ações é um fator determinante para a mudança de comportamento (SANT'ANNA; PEDROSA; PARANHOS DA COSTA, 2018).

No cotidiano de uma produção leiteira, existem diversas oportunidades de interação entre os ordenhadores e os bovinos leiteiros, incluindo a interação durante a ordenha, alimentação, fase pré-parto e suas evoluções, manejo sanitário, reprodução assistida, inseminação artificial, além do manejo para o embarque e desembarque dos animais quando são transportados para fora da propriedade, entre outras práticas zootécnicas (ANDRIOLI *et al.*, 2020). Portanto, a qualidade dessas interações afeta o comportamento, as respostas fisiológicas, metabólicas e os índices de produtividade, pois estão diretamente relacionadas ao bem-estar tanto dos bovinos quanto dos ordenhadores ou responsáveis pelo manejo (ANDRIOLI *et al.*, 2020). De acordo com o mesmo autor, a natureza e as formas de interação, incluindo estímulos táteis, visuais, olfativos, gustativos e auditivos, podem promover a formação espontânea de um vínculo, possibilitando uma afinidade mútua entre eles.

Diversos estudos destacam a importância das interações positivas na relação entre seres humanos e animais ruminantes, as quais influenciam o bem-estar e têm impactos na produtividade, qualidade dos derivados e características organolépticas da carne (MOTA-ROJAS *et al.*, 2019). A aplicação regular de toques, afagos e palmadinhas é considerada uma forma de interação positiva que melhora a relação humano-animal, permitindo que os animais se acostumem ao contato e estabeleçam uma rotina com os seres humanos. Essas ações são resultados de

estudos que enfatizam a importância das interações para o bem-estar dos animais, conforme observado pela perspectiva de Rault *et al.* (2020).

A conexão estabelecida entre humanos e animais por meio da estimulação tátil, como a massagem, desempenha um papel crucial no desenvolvimento animal, especialmente na fase inicial da vida. Pesquisas indicam que essa estimulação contribui para o desenvolvimento cerebral dos bezerros, resultando em maior ganho de peso após o nascimento, maior eficiência na resposta imunológica e comportamentos mais tranquilos. Isso traz benefícios positivos para o comportamento dos animais, tornando-os mais relaxados e confiantes em relação aos tratadores e às instalações (UJITA *et al.*, 2020).

É importante ressaltar que as formas de interação com as vacas leiteiras durante a ordenha são oportunidades para construir uma conexão positiva entre ordenhadores e animais. Essa conexão se fortalece quando ocorre regularmente durante outras atividades de manejo, como pesagens, métodos vacinais e aplicação de medicamentos (UJITA *et al.*, 2020). Ato como acariciar (UJITA *et al.*, 2020), escovar o dorso (SILVA *et al.*, 2017; UJITA *et al.*, 2020), tocar o animal (PROBST *et al.*, 2012) e conversar (UJITA *et al.*, 2020) podem reduzir o medo dos animais em relação aos humanos e, conseqüentemente, a distância de fuga.

Bovinos que não têm interações adequadas ou têm pouco contato na relação com os humanos apresentam respostas de estresse, tanto comportamentais quanto fisiológicas, em relação aos tratadores e ao ambiente (UJITA *et al.*, 2020). Tratadores e ordenhadores que estão constantemente em contato com os animais durante a massagem tátil devem observar os sinais expressos por eles, como vocalizações e outros comportamentos, a fim de avaliar o impacto desses manejos (LEITE *et al.*, 2022).

4. Enriquecimento Ambiental Sonoro (Música) na produção animal

O enriquecimento ambiental consiste na introdução de melhorias no ambiente, tornando-o mais adequado às necessidades físicas e comportamentais dos animais e pode ser categorizado em físico, cognitivo, sensorial, alimentar e social (CAMPOS *et al.*, 2010; MARTIN *et al.*, 2015). Enriquecer o ambiente ajuda os animais a lidarem com fatores estressantes em seu ambiente, reduz a frustração, e expande a satisfação das necessidades comportamentais, além de promover sentimentos afetivos positivos (MANDEL *et al.*, 2016). Entre as abordagens

utilizadas para melhorar o bem-estar, destacam-se, por exemplo, a disponibilização de brinquedos para suínos (LI *et al.*, 2021), escovas mecânicas para bovinos (De Vries *et al.*, 2007), aditivos alimentares funcionais (Schaefer *et al.*, 2001) entre outros. Recentemente, tem havido um crescente interesse no uso de ondas sonoras como uma forma de aliviar os efeitos negativos do estresse em animais criados em sistemas intensivos de produção.

Há milênios a música tem sido empregada como cura em tratamentos de estados físicos e emocionais por diferentes civilizações, e nas últimas décadas, tem havido um crescente interesse em suas aplicações terapêuticas em seres humanos, com diversos estudos clínicos demonstrando resultados positivos ao avaliar a eficácia das intervenções da medicina musical em condições como a doença de Alzheimer (FANG *et al.*, 2017) e a dor aguda (LEE, 2016).

Devido aos efeitos benéficos observados em seres humanos, surgiu a hipótese de que a exposição passiva à música também pode ter efeitos semelhantes em animais. Os primeiros estudos sobre os efeitos da música em animais foram relatados no século XX (GVARYAHU; CUNNINGHAM; VAN TIENHOVEN, 1989; UETAKE; HURNIK; JOHNSON, 1997). Embora o gado seja o tema mais abordado nesse tipo de pesquisa, também foram conduzidos testes bem-sucedidos com suínos, cavalos, carpas e trutas (PAPOUTSOGLU *et al.*, 2007, 2013; KEMP, 2019; WISNIEWSKA *et al.*, 2019; LIPPI *et al.*, 2022); [citar os meus15–18]. Sendo assim, há uma crescente atenção voltada para a utilidade da exposição passiva à música na melhoria do bem-estar e da produtividade em diversos ambientes cativos (WELLS *et al.*, 2002; HOY *et al.*, 2010; KROHN *et al.*, 2011; CAMPBELL *et al.*, 2019; LIPPI *et al.*, 2023; MENDES *et al.*, 2023), uma vez que parece ser uma forma de enriquecimento ambiental de abordagem econômica, instantânea e de fácil implementação. Como resultado, o número de estudos examinando o impacto da exposição à música em animais vem aumentando a cada ano, o que tem levado à crença geral de que a música pode ser benéfica para amenizar os efeitos negativos do estresse, especialmente em animais mantidos em sistemas de produção confinados (CALAMITA *et al.*, 2016; CIBOROWSKA *et al.*, 2021), contribuindo para melhorias em seu bem-estar.

No entanto, é essencial realizar uma avaliação crítica sobre como a música afeta os animais, uma vez que ainda há lacunas nesse conhecimento. A compreensão de como a música afeta os animais é imperativa, uma vez que a

avaliação de se a música é "benéfica para o bem-estar" depende dos objetivos e metas específicas relacionados ao bem-estar do animal em questão, das características das espécies envolvidas e do ambiente em que vivem. Por exemplo, a música pode ser utilizada para reduzir a excitação em cães estressados e ansiosos em abrigos de animais, ao mesmo tempo em que pode aumentar a excitação e a estimulação sensorial em ratos mantidos em laboratórios. Isso evidencia que os efeitos da música nos animais, tanto em termos de mecanismo quanto de resultados observados, não são simples. Portanto, é necessário um entendimento mais aprofundado de como a música funciona para auxiliar na compreensão de como e que tipo de música pode ser utilizada para otimizar o bem-estar animal. (KRIENGWATANA; MOTT; CATE, 2022).

No entanto, existem algumas hipóteses para explicar os efeitos benéficos de diferentes tipos ou gêneros musicais observados em animais de produção. Em ambientes cativos, o ruído causado pela ventilação, atividades humanas, construções e manutenção de edifícios é frequentemente inevitável. Esses sons podem causar estresse nos animais, e a música pode ser uma forma de melhorar seu bem-estar ao mascarar esses ruídos indesejáveis (hipótese de mascaramento acústico). De acordo com MANDEL *et al.* (2016), o uso de música clássica dentro da sala de ordenha gera um impacto indireto no bem-estar das vacas leiteiras, pois reduz o ruído causado pelo som das ordenhadeiras.

Mas, uma vez que diferentes tipos ou peças musicais parecem afetar o comportamento e a fisiologia dos animais de maneira diferenciada (ALWORTH e BUERKLE, 2013; WELLS, 2009), é bastante provável que os impactos da música no bem-estar não se limitem apenas ao mascaramento acústico. A música tem a capacidade de agir como uma forma de enriquecimento sensorial ou cognitivo, o que é uma explicação amplamente aceita para os benefícios da música em animais (hipótese da estimulação sensorial) (WELLS, 2009). De acordo com essa visão, os ambientes cativos geralmente proporcionam uma redução na quantidade e variedade de estímulos sensoriais aos quais os animais são expostos.

A música pode melhorar o bem-estar animal aumentando a complexidade do ambiente em que eles podem sentir, perceber e responder, estimulando assim o desenvolvimento cerebral e a expressão de comportamentos diversos. Essa hipótese é bastante viável porque o sistema auditivo é altamente adaptável, conforme evidenciado por pesquisas que mostram que a representação cerebral

dos sons pode mudar dependendo do ambiente acústico, tanto em aves e mamíferos adultos quanto em fase de desenvolvimento (KEUROGHLIAN e KNUDSEN, 2007; PRATHER *et al.*, 2010).

O estímulo sonoro desempenha um efeito diretamente no sistema nervoso e está intimamente ligado ao desenvolvimento e neuroplasticidade cerebral, como descrito em estudos feitos em animais, os quais mostraram que a exposição à música durante a gestação pode beneficiar o desenvolvimento do cérebro na prole (CHIKAHISA *et al.*, 2006; KÜHLMANN *et al.*, 2018, LIPPI *et al.*, 2022).

Estudos destacam que a música promove a ativação de algumas estruturas cerebrais límbicas (hipocampo, amígdala) e paralímbicas (córtex orbitofrontal caudal, ínsula, polo temporal e o giro para-hipocampal) e alterações neuroquímicas que estão associadas a atitudes relacionadas às recompensas, gerando motivação, prazer, estresse ou excitação (KOELSCH 2010, CHANDA & LEVITIN, 2013).

Outras pesquisas demonstraram que a combinação entre tom principal, frequência (Hz) e ritmo (BPM) da música é capaz de influenciar os níveis de neurotransmissores como Glutamato e GABA (HAO *et al.*, 2020). Considerando o fato de que os sistemas glutamatérgicos e gabaminérgicos estão relacionados com a secreção de ocitocina (PARK *et al.*, 2006; BUSNARDO *et al.*, 2012), compreender de que forma estas alterações ocorrem pode ser um fator chave para modular a produção leiteira. Nesse contexto, Calamita *et al.* (2017) relataram que diferentes características musicais, como frequências (Hz), tempos (bpm) ou amplitudes (dB) promoveram variadas respostas sobre a produção de leite em vacas

Além disso, Lemcke *et al.* (2021) observaram que tocar música pode ser uma ferramenta prática para reduzir os esforços necessários para conduzir as vacas à ordenha.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMCZYK, K.; POKORSKA, J.; MAKUSKA, J.; EARLEY, B.; MAZUREK, M. Genetic analysis and evaluation of behavioural traits in cattle. **Livestock Science**, v. 154, n. 1-3, p. 1–12, 2013.

ALWORTH, L.C.; BUERKLE, S.C. The effects of music on animal physiology, behavior and welfare. **Lab Animal**, v.42, p.54–61, 2013.

ANDRIOLI, M.; CARVALHAL, M.; COSTA, F.; COSTA, M. J. R. P. Efeitos da interação humano-animal no bem-estar de ruminantes leiteiros: Uma Revisão. **Veterinária e Zootecnia**, v. 27, p. 001-014. 2020.

ARCARO JUNIOR, I.; ARCARO, J.R.P.; POZZI, C.R.; FAGUNDES, H.; MATARAZZO, S. V.; OLIVEIRA, C.A. Teores plasmáticos de hormônios, produção e composição do leite em sala de espera climatizada. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 7, n. 2, p. 350-54. 2003.

BOSELLI, C.; DE MARCHI, M.; COSTA, A.; BORGHESE, A. Study of milkability and its relation with milk yield and somatic cell in Mediterranean Italian Water Buffalo. **Frontiers in Veterinary Science**, v.7, p.432, 2020.

BOUISSOU, M.F.; BOISSY, A.; LE NEINDRE, P.; VEISSIER, I. The social behaviour of cattle. In: Keeling, L.J. & Gonyou, H.W. (eds.). **Social Behaviour in Farm Animals**. CAB International, Wallingford, p. 113–145. 2001.

BRAGA, W. A.; PIROVANI; OLIVEIRA, A.F.M.; MOULIN, I.R.M.; CHARPINEL, L.S.; Boas práticas e bem-estar animal no controle de mastite e carrapatos em vacas leiteiras. **Boletim Técnico 04**, Instituto Federal de Educação. Ciência e Tecnologia Do Espírito Santos, alegre/ES, 2020

BURTON, J.F.; PEOPLES, S.; COOPER, M.H. Building 'cowshed cultures': A cultural perspective on the promotion of stockmanship and animal welfare on dairy farms. **Journal of Rural Studies**, v. 28, p. 174-187. 2012.

BUSNARDO, C.; CRESTANI, C. C.; RESSTEL, L. B.; TAVARES, R. F.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; CORRÊA, F. M. Ionotropic glutamate receptors in hypothalamic paraventricular and supraoptic nuclei mediate vasopressin and oxytocin release in unanesthetized rats. **Endocrinology**. v. 153, p. 2323-31. 2012.

CALAMITA, S. C.; DA SILVA, L. P.; DE CARVALHO, M. D.; DE LIMA COSTA, A. B. A música e seus diversos impactos sobre a saúde e o bem-estar dos animais. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 14(3), p. 6-11. 2016.

CALAMITA, S. C.; DA SILVA, L. P.; DE CARVALHO, M. D.; DE LIMA COSTA, A. B. Uso da música na abordagem terapêutica e cadeia produtiva pela medicina veterinária no mundo: revisão de literatura. **Revista Unimar Ciências**, v. 22, p. 1-2. 2017.

CAMPBELL, D.L.M., DE HAAS, E.N., LEE, C. A review of environmental enrichment for laying hens during rearing in relation to their behavioral and physiological development. **Poultry Science**, v. 98, p.9–28, 2019.

CAMPOS, J. A.; TINÔCO de F. F.; I.; FABYANO, F.; PUPA, J. M.; da SILVA, I. J.; Enriquecimento ambiental para leitões na fase de creche advindos de desmame aos 21 e 28 dias. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 2, p. 272-278. 2010.

CAVINATTO, J. A.; FERNANDES, S. B. V.; MARTINS, L. R. V. Conforto e bem-estar de bovinos de leite em sistema Compost Barn. **Salão do Conhecimento**, v. 6, n. 6. 2020.

CHANDA, M. L.; LEVITIN, D. J. The neurochemistry of music. **Trends in cognitive sciences**, v. 17, n. 4, p. 179-193. 2013.

CHEN, S.; SATO, S. Role of oxytocin in improving the welfare of farm animals - A review. Asian-Australasian **Journal of Animal Sciences**, v.30, p.449. 2017.

CHIKAHISA, S.; SEI H.; MORISHIMA, M.; SANO, A.; KITAOKA, K.; NAKAYA, Y.; MORITA, Y.; Exposure to music in the perinatal period enhances learning performance and alters BDNF/TrkB signaling in mice as adults. **Behavioural brain research**, v.169, p.312-319. 2006.

CIBOROWSKA, P.; MICHALCZUK, M.; BIENÍ, D. The Effect of Music on Livestock: Cattle, Poultry and Pigs. **Animals**, v. 11, n. 12, p. 3572. 2021.

COSTA, P. T., SILVEIRA, I. D. B., SILVEIRA, R. F., VAZ, R. Z., FERNANDES, T. A., MOREIRA, S. M., & FARIAS, G. D. Características comportamentais dos bovinos: Aspectos básicos, processo de aprendizagem e fatores que as afetam. **REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria**, v. 18, n. 9, p. 1-16. 2017.

DeVRIES, T.J.; VANKOVA, M.; VEIRA, D.M.; VON KEYSERLINGK, M.A.G. Short communication: Usage of mechanical brushes by lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.2241–2245, 2007

ELY, F.; PETERSEN W. E. Factors involved in the ejection of milk. **Journal of Dairy Science**, v. 24, p. 211-223. 1941.

FANG, R.; YE, S.; HUANGFU, J.; CALIMAG, D.P. Music therapy is a potential intervention for cognition of Alzheimer's Disease: a mini-review. **Transl Neurodegener**. v. 6; p.2, 2017.

FARIA, V. P. Uso da ocitocina para ordenha. Separação do bezerro e uso da ocitocina. **Esalq/Piracicaba**, 2013.

FRASER D. & RYBCZYNSKI, N. Complexity of ruminant masticatory evolution. **Journal of Morphology**, v. 275, n. 10, p. 1093–102. 2014

GONZÁLEZ, F.H.D. A vaca leiteira do século 21: lições de metabolismo e nutrição. **[livro eletrônico]** / Félix H. D. González, editor. – Porto Alegre: Universidade

Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, 2021. PDF, 348 p.: il. ISBN 978-65-5973-073-5

GVARYAHU, G.; CUNNINGHAM, D.L.; VAN TIENHOVEN, A. Filial Imprinting, Environmental Enrichment, and Music Application Effects on Behavior and Performance of Meat Strain Chicks. **Poultry Science**, v.68, p.211–217, 1989.

HAMANN, J.; DODD, F.H. **Milking routines**. In: A.J. Bramley, F.H. Dodd, G.A. Mein, J.A. Bramley (Eds.), *Machine Milking and Lactation*, Insight Books, Huntington, VT, pp. 69-96, 1992.

HAO, J.; JIANG, K.; WU, M.; YUC, J.; ZHANG, X. The effects of music therapy on amino acid neurotransmitters: Insights from an animal study, **Physiology & Behavior**, v. 224, p. 113024, 2020.

HEMSWORTH, P. H. Human-animal interactions in livestock production. **Applied Animal Behaviour Science**, v.81, p.185-198, 2003.

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

HONORATO, L. A.; HÖTZEL, M. J.; GOMES, C. C. D. M.; SILVEIRA, I. D. B.; MACHADO FILHO, L. C. P. Particularidades relevantes da interação humano-animal para o bem-estar e produtividade de vacas leiteiras. **Ciência Rural**, v. 42, p. 332-39. 2012.

HOY, J.M., MURRAY, P.J., TRIBE, A. Thirty years later: Enrichment practices for captive mammals. **Zoo Biology**, v.29, p.303–316, 2010.

KEMP, A. The Effects of Music on Dairy Production. Murray State University Honors College: Murray, KY, USA, 2019. Available online: <https://digitalcommons.murraystate.edu/honorstheses/41>

KEUROGHLIAN, A.S.; KNUDSEN, E.I. Adaptive auditory plasticity in developing and adult animals. **Progress in Neurobiology**, v.82, n.3, p.109–121, 2007.

KOELSCH, S. Towards a neural basis of music-evoked emotions. **Trends in Cognitive Sciences**, v. 14, n. 3, p. 131-137. 2010.

KOOLHAAS, J.M.; BARTOLOMUCCI, A.; BUWALDA, B.; DE BOER, S.F.; FLÜGGE, G.; KORTE, S.M.; MEERLO, P.; MURISON, R.; OLIVIER, B.; PALANZA, P. Stress revisited: A critical evaluation of the stress concept. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 35, p. 1291–1301, 2011.

KRIENGWATANA, B. P.; MOTT, R.; TEN CATE, C. Music for animal welfare: A critical review & conceptual framework. **Applied Animal Behaviour Science**, v.251, p.105641, 2022.

KROHN, T.C., SALLING, B., HANSEN, A.K.. How do rats respond to playing radio in the animal facility? **Laboratory Animals**, v.45, n.3, p.141–144, 2011.

KÜHLMANN, A. Y. R.; ROOIJ, A.; HUNINK, M.G.M.; ZEEUW, C.I.; JEEKEL, J. Music affects rodents: a systematic review of experimental research. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v.12, p. 445-452. 2018.

LEE, J.H. The effects of music on pain: A meta-analysis. **Journal of Music Therapy**, v.53, n.4, p.430–477, 2016.

LEITE, L. O.; NUNES-PINHEIRO; D.C.S; HÖTZEL, M. J. Técnica de massagem relaxante como ferramenta para melhorar a relação humano-animal e os parâmetros de bem-estar animal. **Ciência Animal**, v. 32, n. 1, p. 100-114. 2022.

LEMCKE, M.-C.; EBINGHAUS, A.; KNIERIM, U. Impact of Music Played in an Automatic Milking System on Cows' Milk Yield and Behavior - A Pilot Study. **Dairy**, v.2, n.1, p.73–78, 2021.

LI, Y.;WANG, C.; HUANG, S.; LIU, Z.;WANG, H. Space allowance determination by considering its coeffect with toy provision on production performance, behavior and physiology for grouped growing pigs. **Livestock Science**, v.243, p.104389, 2021.

LIPPI, I.C.C.; CALDARA, F.R.; ALMEIDA-PAZ, I.C.D.L.; MORAIS, H.B.; ODAKURA, A.M.; KONKIEWITZ, E.C.; FERREIRA, W.S.; FRAGA, T.L.; BURBARELLI, M.F.C.; FELIX, G.A.; GARCIA, R.G.; SANTOS, L.S. Effects of Music Therapy on Neuroplasticity, Welfare, and Performance of Piglets Exposed to Music Therapy in the Intra- and Extra-Uterine Phases. **Animals**, v.12, p. 2211, 2022.

LIPPI, I.C.C.; CALDARA, F.R.; MORAIS, H.B.; VARGAS, L.B.; ODAKURA, A.M.; BURBARELLI, M.F.C.; FELIX, G.A.; GARCIA, R.G.; ALMEIDA-PAZ, I.C.L.; SANTOS, L.S. Effects of Auditory Enrichment on Welfare and Performance of Sows During Pregnancy and Farrowing/lactation Periods. **Journal of Applied Animal Welfare Science**, v.24, p.1-17, 2023.

MANDEL, R; WHAY, H. R; KLEMENT, E.; NICOL, C. J. Invited review: Environmental enrichment of dairy cows and calves in indoor housing. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 1695–1715. 2016.

MARTIN, J. E.; ISON, S. H.; BAXTER, E. M.; The influence of neonatal environment on piglet play behaviour and post-weaning social and cognitive development. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 163, p. 69-79. 2015.

MENDES, J.P; CALDARA, F.R; BURBARELLI, M.F.C; VALENTIM, J.K.; MANDÚ, D.F.B; GARCIA, R.G; ALMEIDA-PAZ, I.C.L; ODAKURA, A.M; LOURENÇO DA SILVA, M.I. Performance and Welfare of Sows Exposed to Auditory Environmental Enrichment in Mixed or Collective Housing Systems. **Animals**, v.13, p.1226, 2023.

MOTA-ROJAS, D.; DE ROSA, G.; MORA-MEDINA, P.; BRAGHIERI, A.; GUERRERO-LEGARRETA, I.; NAPOLITANO, F.; ROJAS, D. M. Dairy buffalo

behaviour and welfare from calving to milking. **CAB reviews: Perspectives in agriculture, veterinary science, nutrition and natural resources**, v. 14, p:1-9. 2019.

ODEÓN, M. M.; ROMERA, S. A. Estrés en ganado: causas y consecuencias. **Revista Veterinária**, v. 28, p. 69-77. 2017.

OLIVEIRA, G. C. B.; SILVA, R. R.; VELOSO, C. M.; MARQUES, J. de A.; DIAS, D. L. S.; SILVA, F. F.; CARVALHO, G. G. P.; LEITE, L. C.; LISBOA, M. M.; ABREU FILHO, G. Interactions cow-milker and behavioral productive and economic responses of the animals. **Archivos de Zootecnia**, v. 63, p. 381- 84. 2014.

PAPOUTSOGLOU, S.E.; KARAKATSOULI, N.; LOUIZOS, E.; CHADIO, S.; KALOGIANNIS, D.; DALLA, C.; POLISSIDIS, A.; PAPADOPOULOU-DAIFOTI, Z. Effect of Mozart's music (Romanze-Andante of "Eine Kleine Nacht Musik", sol major, K525) stimulus on common carp (*Cyprinus carpio* L.) physiology under different light conditions. **Aquacultural Engineering**. v.36, 61–72, 2007.

PAPOUTSOGLOU, S.E.; KARAKATSOULI, N.; SKOURADAKIS, C.; PAPOUTSOGLOU, E.S.; BATZINA, A.; LEONDARITIS, G.; SAKELLARIDIS, N. Effect of musical stimuli and white noise on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth and physiology in recirculating water conditions. **Aquacultural Engineering**, v.55, p.16–22, 2013.

PARK, J. B.; SKALSKA, S.; STERN, J. E. Characterization of a novel tonic GABA_A receptor-mediated inhibition in magnocellular neurosecretory neurons and its modulation by glia. **Endocrinology**. v. 147, p. 3746 – 60. 2006.

PETERSEN, W. E.; LUDWICK, T. M. The humoral nature of the factor causing the letdown of the milk. *Federation Proceedings*. v.1, p. 66-67. 1942.

PRATHER, J.F.; PETERS, S.; NOWICKI, S.; MOONEY, R., Persistent representation of juvenile experience in the adult songbird brain. **Journal of Neuroscience**, v.30, p.10586–10598, 2010.

PRESTES, N. C.; LANDIM-ALVARENGA, F.C *Obstetrícia veterinária*. Ed. **Guanabara Koogan**, 2^a edição, 236p. 2017.

PROBST, J. K., NEFF, A. S., LEIBER, F., KREUZER, M., HILMANN, E. Gentle touching in early life reduces avoidance distance and slaughter stress in beef cattle. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 139, n. 1-2, p. 42-49. 2012.

RAULT, J. L.; WAIBLINGER, S.; BOIVIN, X.; HEMSWORTH, P. The power of a positive human–animal relationship for animal welfare. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7. 2020.

REZENDE, N. S.; AMARAL, R. R.; PEREIRA, A. A.; MOTA, D. A.; REDIN, E.; MELO, T. V. Percepção do bem-estar animal na pecuária familiar de leite em Unaí, Minas Gerais. **HOLOS**, [S. l.], v. 1, p. 1–12. 2021.

ROCHA, D. T.; CARVALHO, G. R.; RESENDE, J. C. Cadeia produtiva do leite no Brasil: produção primária. Circular Técnica 123. Embrapa. Juiz de Fora, MG, 2020. Disponível em <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/215880/1/CT-123.pdf>

SANT'ANNA, A. C.; PEDROZA, M. G. M.; PARANHOS DA COSTA, M. J. R. Percepção de ordenhadores sobre a interação-humano animal em fazendas leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecias**, v. 19, n. 2. 2018.

SANTOS, B.; NEVES, A. Z.; RIBEIRO, L. F.; Importância do bem-estar animal na bovinocultura de leite. **Revista GeTeC**, v. 10, n. 26. 2021.

SANTOS, I.O; RITA, A. B. S.; SILVA, K. C. C. The use of music therapy in functional rehabilitation. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 7. 2022.

SCHAEFER, A.L.; DUBESKI, P.L.; AALHUS, J.L.; TONG, A.K.W. Role of nutrition in reducing antemortem stress and meat quality aberrations. **Journal of Animal Science**. v.79, p.E9, 2001,.

SCHMIDT, G.H. *Biología de la Lactación*. Zaragoza: Editorial Acribia, 307p, 1974.

SILVA, F. R.; MIRANDA, K. O. D. S.; PIEDADE, S. M. D. S.; SALGADO, D. D. A. Effect of auditory enrichment (music) in pregnant sows welfare. **Engenharia Agrícola**, v. 37, p. 215-225. 2017.

SORGE, U.S. CHERRY, C. BENDER, J.B. Perception of the importance of human-animal interactions on cattle flow and worker safety on Minnesota dairy farms. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 4632 – 38. 2014.

UETAKE, K.; HURNIK, J.F.; JOHNSON, L. Effect of music on voluntary approach of dairy cows to an automatic milking system. **Applied Animal Behaviour Science**, v.53, p.175–182, 1997

UJITA, A.; RIBEIRO. V. R.; PEREIRA, L. M. L.; NEGRÃO, J. A.; OLIVEIRA, L. F.; PENIDO, O. A.; VERONEZE, R.; ZADRA, L. F. Improvements in the behaviour of Gir dairy cows after training with brushing. **Journal of Applied Animal Research**, v. 48, n. 1, p. 184-191. 2020.

VASSEUR, E.; BORDERAS, F.; CUE, R.I.; LEFEBVRE, D.; PELLERIN, D.; RUSHEN, J.; WADE, K.M.; DE PASSILLÉ, A.M. A survey of dairy calf management practices in Canada that affect animal welfare. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 1307-15. 2010.

VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. Características do leite. **Boletim Técnico**, Universidade Federal do Espírito Santo, Pró-Reitoria de Extensão, Programa Institucional de Extensão, PIE-UFES, v. 1007, n. 6. 2007

WELLS, D.L., GRAHAM, L., HEPPEL, P.G.. The influence of auditory stimulation on the behaviour of dogs housed in a rescue shelter. **Animal Welfare**, v.4, p.385–393, 2002.

WELLS, D.L. Sensory stimulation as environmental enrichment for captive animals: A review. **Applied Animal Behaviour Science**, v.118, n.(1-2), p.1-11, 2009.

WISNIEWSKA, M.; JANCZAREK, I.; WILK, I.; WNUK-PAWLAK, E. Use of Music Therapy in Aiding the Relaxation of Geriatric Horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.78, p.89-93, 2019.

CAPÍTULO 2

Massagem dessensibilizadora e música durante ordenha influenciam o bem-estar e produtividade de vacas leiteiras

Projeto aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/UFGD

Número de protocolo:03/2022

Artigo redigido de acordo com as normas da Revista *Journal of Dairy Science*

Agriculture, Dairy & Animal Science (2021): *Journal Impact Factor* - 4.225, Quartil – Q1, Percentil – 91,13

RESUMO

Na bovinocultura leiteira, a forte interação entre homem e animal, especialmente durante o manejo de ordenha, pode influenciar diretamente o bem-estar e aspectos ligados a produção. Nesse contexto, boas práticas de manejo, associadas à utilização de estímulos táteis e auditivos podem auxiliar na obtenção de melhores resultados. Assim, o objetivo com esse estudo foi avaliar os efeitos da massagem dessensibilizadora e de estímulos musicais durante a ordenha sobre parâmetros produtivos, fisiológicos, sanitários e de bem-estar de vacas leiteiras. O experimento foi conduzido em uma propriedade comercial caracterizada por baixa produção leiteira. Para isso, foram utilizadas 40 vacas leiteiras mestiças, com idade e peso corporal variando entre 36 e 42 meses e 350 a 400 kg, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2, nos seguintes tratamentos: (Con) - vacas não expostas aos estímulos; (Mas) - vacas expostas à massagem durante ordenha; (Mus) - vacas expostas à música durante ordenha; (Mas+Mus) - vacas expostas a ambos os estímulos durante ordenha. Foram elegidas para a pesquisa músicas clássicas com andamento Andante (75 a 107 BPM) e Andante Moderato (90 a 100 BPM) e a massagem realizada no dorso e úbere das fêmeas imediatamente após a entrada na sala de ordenha. O experimento teve duração de 39 dias, sendo os 10 primeiros dias de adaptação animal e 29 dias para coleta de dados após a introdução dos estímulos sensoriais. Vacas que não foram expostas a nenhum dos estímulos apresentaram quantidade de leite residual até 41% superior àquelas que receberam apenas um dos estímulos ou ambos associados. A utilização de massagem durante a ordenha promoveu aumento da frequência respiratória, do tempo de ordenha e de escores de mastite subclínica. Vacas expostas à Mas+Mus apresentaram maior temperatura ocular em relação àquelas que receberam apenas massagem, além de menor distância de fuga em relação aos demais tratamentos. O estímulo sonoro promoveu o aumento de gotejamento de leite antes do início da ordenha. Vacas que receberam os estímulos apresentaram níveis mais elevados de serotonina, com indicativo de efeito aditivo entre os fatores de enriquecimento ambiental. A utilização de massagem dessensibilizadora e de música durante a ordenha foram eficazes na redução da reatividade de vacas em relação aos seres humanos e promoveram melhorias no bem-estar e na produtividade. Ambas as técnicas associadas podem promover efeitos aditivos na produtividade leiteira, entretanto, alguns cuidados sanitários devem ser tomados em relação aos equipamentos utilizados para estímulos táteis.

Palavras-chave: Bovinocultura leiteira, enriquecimento ambiental, interação homem-animal; serotonina.

ABSTRACT

In dairy cattle farming, the strong interaction between humans and animals, especially during milking management, can directly influence well-being and aspects related to production. In this context, good management practices, combined with the use of tactile and auditory stimuli, can help achieve better results. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effects of desensitizing massage and musical stimuli during milking on productive, physiological, sanitary, and welfare parameters of dairy cows. The experiment was conducted on a commercial farm characterized by low milk production. Forty crossbred dairy cows, ranging in age and body weight from 36 to 42 months and 350 to 400 kg, were randomly allocated in a 2x2 factorial design to the following treatments: (Con) - cows not exposed to stimuli; (Mas) - cows exposed to massage during milking; (Mus) - cows exposed to music during milking; (Mas+Mus) - cows exposed to both stimuli during milking. Classical music with Andante (75 to 107 BPM) and Andante Moderato (90 to 100 BPM) tempos was selected for the study, and the massage was performed on the back and udder of the females immediately after entering the milking parlor. The experiment lasted for 39 days, with the first 10 days for animal adaptation and 29 days for data collection after the introduction of sensory stimuli. Cows not exposed to any stimuli showed residual milk quantity up to 41% higher than those that received only one of the stimuli or both combined. The use of massage during milking increased respiratory rate, milking time, and subclinical mastitis scores. Cows exposed to Mas+Mus showed higher ocular temperature compared to those that received only massage, as well as shorter flight distance compared to the other treatments. The sound stimulus increased pre-milking milk dripping. Cows that received the stimuli had higher levels of serotonin, indicating an additive effect of environmental enrichment factors. The use of desensitizing massage and music during milking was effective in reducing cows' reactivity to humans and promoting improvements in well-being and productivity. Both techniques, when combined, can have additive effects on milk productivity; however, certain sanitary precautions must be taken regarding the equipment used for tactile stimuli.

Keywords: Dairy cattle; environmental enrichment, human-animal interaction; serotonin

1 INTRODUÇÃO

O comportamento e atitudes humanas de rotina influenciam diretamente o nível de medo dos animais em relação aos seus tratadores (Hemsworth & Coleman, 2011), sendo que animais em condições confortáveis e expostos a experiências positivas com relação aos humanos tendem a reduzir o medo e, conseqüentemente, facilitar seu manejo (Probst *et al.*, 2012). Considerando a forte interação existente entre ambos durante a ordenha, cuidados com alimentação e saúde, evidencia-se a importância da utilização de boas práticas de manejo para obtenção de melhores condições de bem-estar tanto para vacas quanto para seus manejadores.

A natureza (positiva ou negativa) e as formas de interação (táteis, visuais, olfativas, gustativas e auditivas) podem causar reflexos no comportamento, fisiologia, metabolismo e índices de produtividade, uma vez que estão diretamente relacionadas ao bem-estar dos bovinos e dos ordenhadores, podendo promover espontaneamente a formação de um vínculo e afinidade entre ambos (Andrioli *et al.*, 2020). Por sua vez, a introdução de melhorias no ambiente tornando-o mais adequado às necessidades físicas e comportamentais dos animais, pode ser um facilitador nesse processo. Enriquecer o ambiente ajuda os animais a lidarem com fatores estressantes em seu ambiente, reduz a frustração, e expande a satisfação das necessidades comportamentais, além de promover sentimentos afetivos positivos (Martin *et al.*, 2015; Mandel *et al.*, 2016; Ball, Mercado, Orduna, 2019).

Nesse sentido, a utilização de estímulos táteis como forma de enriquecimento pode representar aspecto importante no manejo de bovinos de leite. Pesquisadores documentaram que interações positivas por meio de toques e massagens, quando aplicados regularmente, podem melhorar o relacionamento humano-animal, tornando os animais mais predispostos à contatos táteis, uma vez que entendem esta interação como gratificante (Rault *et al.*, 2020).

O uso de música para reduzir os efeitos do estresse em animais mantidos em sistemas de produção intensiva também tem sido objeto de estudo de diversos pesquisadores (Ciborowska, Michalczuk, Bien, 2021; Lippi *et al.*, 2022; Lippi *et al.*, 2023). Resultados prévios apontam que a reprodução de música clássica durante a ordenha pode ter efeitos positivos na produção e qualidade do leite e no bem-estar dos animais, reduzindo o estresse e o comportamento agitado das vacas leiteiras (Li *et al.*, 2017; Lemcke *et al.*, 2021). No entanto, mais pesquisas são necessárias para

entender melhor os mecanismos subjacentes a esses efeitos e como a música pode ser usada de forma mais eficaz no manejo de bovinos de leite.

Desta forma, a presente pesquisa foi realizada com o objetivo de avaliar os efeitos da utilização da massagem dessensibilizadora e música, de forma individual ou associados, nos parâmetros produtivos, fisiológicos, sanitários e de bem-estar de vacas leiteiras.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos realizados nesse estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, sob protocolo nº 03/2022.

2.1 Local e caracterização da propriedade na rotina de manejos

O experimento foi conduzido entre os meses de março a abril de 2022 em uma propriedade comercial de produção leiteira, localizada no município de Dourados-MS, região Centro-Oeste do Brasil. O município localiza-se em latitude 22° 13' 18" S, longitude 54° 48' 23" W e altitude de 437m. Durante a execução da pesquisa as condições climáticas mensais médias registradas por estação meteorológica foram: pluviosidade de 216 mm, temperatura mínima de 19,5°C, temperatura máxima de 30,5°C e UR 76,5%.

Na propriedade rural são criadas vacas leiteiras provenientes de cruzamentos entre Jersey e Holandesa. Os animais são criados em sistema de pastejo, com predominância da pastagem *Brachiaria brizantha*, além de serem suplementados com concentrado comercial, e receberem volumoso da capineira BRS Capiaçú (*Pennisetum purpureum Schum*), após a ordenha.

O manejo dos animais na propriedade, anterior ao experimento, consistia na condução das vacas uma vez ao dia (05:00 h), dos piquetes localizados a aproximadamente de 300 metros do local de ordenha, até a sala de espera e, posteriormente, à sala de ordenha.

Ao início do estudo, foram necessárias algumas adaptações no manejo das vacas, obtidas por meio de palestras e treinamentos ministrados aos ordenhadores, para correção de condutas agressivas com os animais, inserido-se na propriedade um manejo racional, no qual os animais passaram a ser conduzidos do piquete para

a sala de espera de forma tranquila, sem gritos, respeitando sua velocidade de deslocamento, sem utilização de ferramentas aversivas (choque, cordas ou varas).

A ordenha na propriedade é feita de forma mecânica, em sala no formato espinha de peixe, medindo 6,20m x 5,10m, sem grades em suas laterais, fechadas somente na entrada e saída dos animais, com capacidade para 10 vacas, sendo cinco vacas de cada lado.

Após entrada na sala de ordenha as vacas eram preparadas cumprindo-se as etapas: limpeza e desinfecção dos tetos utilizando clorexidina 0,1% e papel toalha (*pré-dipping*); teste da caneca do fundo preto; administração subcutânea de 1,0 ml de ocitocina 40 segundos antes do início da ordenha de cada animal e colocação das teteiras mecânicas individuais nas primeiras cinco vacas que receberam a dose de ocitocina. Após o término da ordenha era efetuada a retirada completa das teteiras por ordem de perda do vácuo e feito o *pós-dipping* de forma semelhante ao *pré-dipping*.

Os horários de rotina adotados pela propriedade foram mantidos durante o experimento, com alteração da forma de condução dos animais e aplicação de ocitocina, que foi suspensa desde o início das avaliações experimentais.

Para monitoramento da temperatura e umidade relativa do ar foram instalados na sala de ordenha, à altura de 1,50 metros do piso, dois termohigrômetros digitais com sonda externa (Jiaxi – HTC 2A), sendo os dados anotados após o término das avaliações diárias.

2.2 Animais e Delineamento Experimental

Para o estudo foram utilizadas 40 vacas leiteiras, com idade e peso corporal variando entre 36 e 42 meses e 350 a 400 kg e produção leiteira média de 6,5 litros/dia. O experimento teve duração de 39 dias, sendo os 10 primeiros, sem introdução dos estímulos sensoriais, utilizados para treinamento da equipe e ambientação dos animais.

Durante o período de adaptação foram coletados diariamente dados de produção de leite sem a aplicação de ocitocina e após a ordenha foi aferido o leite residual aplicando-se ocitocina.

Os animais, individualmente identificados por meio de colares numerados, foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2, nos seguintes tratamentos:

T1 - Controle (Con): vacas não expostas a massagem dessensibilizadora ou música;

T2 - Massagem (Mas): vacas expostas à massagem dessensibilizadora antes da ordenha;

T3 - Música (Mus): vacas expostas à música durante ordenha;

T4 - Massagem + Música (Mas+Mus): vacas expostas à massagem dessensibilizadora e música.

As vacas foram conduzidas dos piquetes à ordenha em dois grupos. Primeiramente foram conduzidas as vacas dos tratamentos (Con) e (Mas), e após a ordenha deste grupo e seu retorno aos piquetes as vacas dos (Mus) e (Mus+Mas) eram então levadas para a sala de espera, de forma a evitar que as vacas dos tratamentos (Con) e (Mas) tivessem acesso aos estímulos sonoros. Após cada término de ordenha as vacas eram retiradas do recinto e reconduzidas novamente ao piquete com livre acesso à água e área de comedouros, onde recebiam a suplementação em cocho coletivo.

2.3 Massagem Dessensibilizadora

O método de massagem dessensibilizadora utilizado foi baseado no modelo apresentado por Leite *et al.* (2020), conforme Tabela 1.

Tabela 1. Técnicas de dessensibilização utilizadas no manejo de vacas leiteiras.

| Técnica de dessensibilização | Descrição da técnica | Efeitos terapêuticos da massagem dessensibilizadora |
|---|---|--|
| <i>Effleurage</i> (Deslizamento do equipamento) | O equipamento deve se mover no animal na direção distal e proximal para o úbere, membros e dorso, modelando-os com uma pressão média. | - Aumento do retorno venoso e linfático; - Remoção de produtos da inflamação; - Melhora da mobilidade entre os tecidos; - Redução ou aumento do tônus muscular. |
| <i>Stroking</i> (Massagem relaxante com o equipamento) | O equipamento se move na direção pescoço-cauda, úbere e membros, com uma pressão gentil, mas firme. | - Relaxamento; - Redução da tensão; - Redução lenta do tônus muscular. |

Adaptado de Leite *et al.* (2020)

Para a execução da massagem foi utilizado um bastão de haste flexível de 50 cm de comprimento, com ponta coberta por tecido de algodão, o qual era friccionado durante sete segundos (7s) em todo o dorso e membros posteriores do animal (Figura 1). Já na região do úbere, a duração da massagem foi de 30 segundos. Após esse tempo, as teteiras eram acopladas para início da ordenha.



Figura 1. Massagem dessensibilizadora sendo aplicada nas vacas durante a ordenha

2.4 Estímulos sonoros (música)

Para os estímulos musicais elaborou-se uma *playlist* baseada em suítes, sinfonias e concertos com andamento Andante (75 a 107 BPM) e Andante Moderato (90 a 100 BPM), e compostas para violoncelo, violino e instrumentos de corda (Bach - Suite Nº1 para Cello em Sol maior, Bach - Concerto de Violino em Lá menor, Mendelssohn – Sinfonia de cordas Nº4, Bach – Brandenburg Concerto #4 In G; Bach – Concerto de Brandenburg Nº1 em Fa; Bach – Suítes Inglesas; Mozart – Sinfonia Nº33 em Si bemol maior).

A reprodução musical foi efetuada por meio de duas caixas de som, com potência RMS de 500 W, não ultrapassando 75 DB, conforme recomendação de Alworth & Buerkle (2013), sendo aferida por meio de decibelímetro (KTW Apps), para garantir que o som estivesse uniformemente distribuído e que não ultrapassasse o volume recomendado.

2.5 Avaliações

2.5.1 Produção leiteira, leite residual e tempo de ordenha

Após o período de adaptação a produção de leite foi mensurada uma vez por semana em um único turno de ordenha (5:00 A.M). As mensurações foram realizadas de forma individual, sendo o leite armazenado em tambores com capacidade para 45 litros, acoplados à cada unidade de ordenha, sendo posteriormente medidos com régua de medição do volume de leite para determinação da produção diária em litros.

Após o término da ordenha, aplicou-se 1,0 mL de ocitocina via subcutânea no pescoço para a recuperação do leite residual e, 40 segundos após a administração hormonal, as vacas foram novamente ordenhadas. A administração de ocitocina foi realizada apenas nos dias de avaliação da produção leiteira.

A duração da ordenha foi diariamente avaliada individualmente por meio de um cronômetro, registrando-se o horário exato do acoplamento das teteiras e o horário de sua retirada, padronizado pela perda do vácuo, após a extração da última teteira.

2.5.2. Presença de mastite subclínica (Teste CMT)

Concomitantemente às avaliações de dados da produção leiteira, procedeu-se o exame físico da glândula mamária e após a higienização e antissepsia do úbere foi realizada colheita de amostras de cada quarto mamário para realização do teste diagnóstico da mastite subclínica (Califórnia Mastite Teste - CMT), seguindo as recomendações do fabricante (Tadabras®) (Figura 2).



Figura 2. Colheita de amostras de leite e realização do Califórnia Mastite Teste ®

2.5.3. Frequência respiratória, temperatura ocular e temperatura superficial do úbere

A frequência respiratória durante a ordenha foi mensurada uma vez por semana, por meio da contagem dos movimentos do flanco durante um minuto. Para o registro semanal de imagens e avaliação da temperatura ocular e do úbere, foi utilizada Câmera termográfica ((ThermaCam S60, FLIR Systems AB, Danderyd, Sweden). Todas as imagens foram submetidas ao processamento por meio do software *FLIR Report Studio*® versão 6.4.18039.1003. A emissividade utilizada foi de 0,98 (emissividade para pele de mamíferos) (Lees *et al.*, 2018; Rezende *et al.*, 2022; Kim e Cho, 2022).

As imagens oculares e do úbere foram sempre registradas do mesmo lado, em ângulo de 90° a uma distância entre 0,5 e 1,0 m do animal, para olhos e úbere, respectivamente. Com base nas imagens registradas do úbere, foi calculada a Temperatura Superficial Média (TSM) selecionando-se 30 pontos na área da imagem (Figura 3a). A temperatura máxima (°C) dentro da área da borda palpebral posterior medial da pálpebra inferior e carúncula lacrimal (Stewart *et al.*, 2008a) foi registrada (Figura 3b).

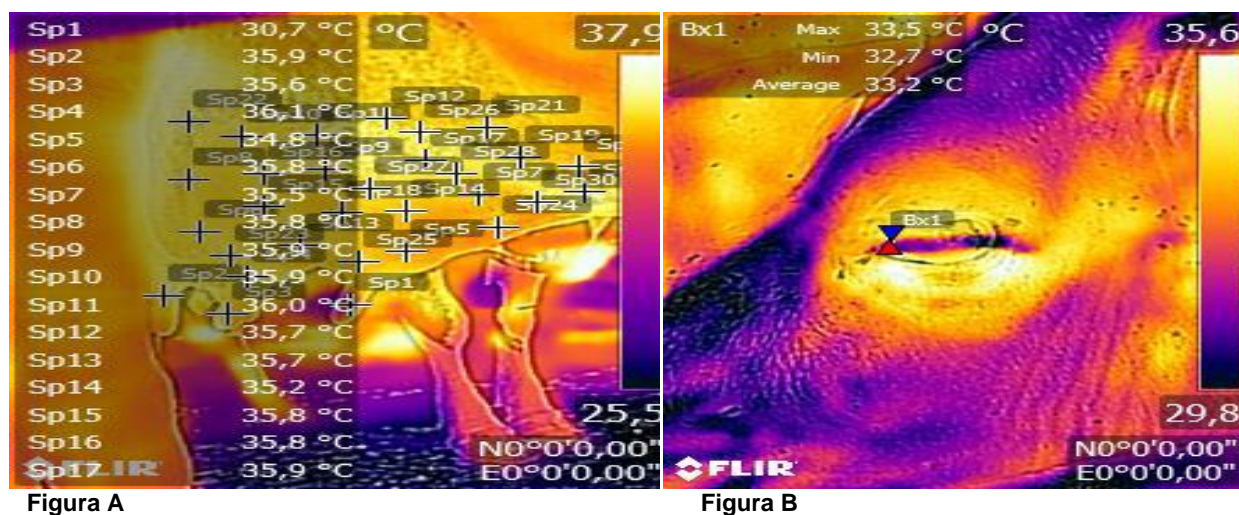


Figura 3. Imagem termográfica do úbere com pontos marcados para determinação da temperatura superficial média (A) e imagem termográfica ocular com ponto de temperatura máxima selecionado (B).

2.5.4 Comportamento na sala de ordenha

O comportamento das vacas foi avaliado uma vez por semana pelo método animal focal, de forma contínua, desde a entrada na sala de ordenha até a retirada das teteiras.

Todas as avaliações foram registradas pelo mesmo observador treinado, contabilizando-se o número de vezes que cada animal apresentou os comportamentos listados em etograma pré-estabelecido (Tabela 2).

Tabela 2. Etograma utilizado para avaliação das vacas leiteiras durante ordenha.

| Comportamentos registrados | Descrição do comportamento |
|-----------------------------------|--|
| Urinar | Eliminação de urina |
| Defecar | Eliminação de fezes |
| Interações sociais negativas | Cabeçadas, empurrões com o corpo, em vacas adjacentes |
| Interações sociais positivas | Interações positivas (cheirar, lambar) com vacas adjacentes |
| Gotejar | Gotejamento de leite antes do início da ordenha |
| Coicear | Movimentos rápidos e fortes com as patas traseiras |
| Vocalizar | Emissão de som pela boca; |
| Estereotípias | Mordedura de barras, abrir a boca e enrolar a língua dentro da cavidade oral (tongue-playing). |
| Coçar-se | Uso da língua ou golpeio com o rabo na tentativa de alcançar todas as partes do corpo. |

Adaptado de Cerqueira *et al.* (2011).

2.5.5. Teste de abordagem forçada do animal

O teste foi realizado sempre pelo mesmo avaliador, uma vez por semana durante o período experimental, sendo conduzido nos piquetes e baseado na avaliação da reação do animal à aproximação de uma pessoa, conforme descrito por Cerqueira *et al.* (2011). O avaliador aproximou-se de cada vaca de forma tranquila, abordando o animal pela frente, caminhando lentamente (um passo por segundo), e mantendo braços e mãos rentes ao corpo. Utilizando uma trena digital mensurou a distância em metros permitida de aproximação antes que o animal se afastasse. O teste era finalizado quando a vaca se afastava, dando passos bem definidos.

2.5.6. Níveis séricos de serotonina

Ao final do período de adaptação (10^o dia) e após o período de coleta de dados (39^o dia) foram realizadas colheita de 15 ml de sangue de todos os animais, por punção da veia coccígea, para avaliação dos níveis séricos de serotonina. O sangue foi transferido para tubos contendo ativador de coágulo, e centrifugados em centrífuga Digital (K14-0815C modelo KASVI) por 10 min a 3000 rpm, à temperatura ambiente. O soro foi transferido para *ependorfs* e congelado a -20°C até o momento da análise. Para avaliação dos níveis de serotonina as amostras foram analisadas com kit de imunoenensaio enzimático comercial (Alpco Diagnostics, Windham, NH), sendo os valores expressos em ng/mL.

2.6 Análises Estatísticas

Os dados de tempo de ordenha, produção de leite, leite residual, distância de fuga durante teste de abordagem forçada, frequência respiratória, temperatura ocular e de úbere e níveis séricos de serotonina foram avaliados quanto à normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro Wilk e a homogeneidade das variâncias pelo teste de Levene. Por sofrerem influências das condições e características iniciais do rebanho, foi adicionado ao modelo matemático as covariáveis, produção de leite inicial, leite residual inicial, dias em lactação, peso vivo em lactação, ordem de lactação, CMT inicial, CMT final, grupo racial, tempo de ordenha do início do experimento, tempo de ordenha ao final experimento e dias de coleta para correção dos dados. Estas características selecionadas foram inclusas ou exclusas de acordo com o melhor ajuste do modelo. Pela temperatura ocular e de úbere sofrerem influências da temperatura do ambiente no momento da realização do teste, adicionou-se ao modelo matemático a temperatura ambiental, além das covariáveis descritas anteriormente, para correção dos dados. Foi realizada análise de variância utilizando o PROC MIXED do SAS[®] (2014), avaliando os efeitos das interações entre a música e massagem. Quando as interações foram significativas utilizou-se o teste de *Tukey* para comparação das médias. Quando apenas observados os efeitos principais, o teste F foi utilizado para comparação das médias. As análises estatísticas para os resultados de CMT e comportamento das vacas foram realizadas utilizando o procedimento SAS GLIMMIX (SAS[®], versão 9.4, SAS *Institute Inc*, Cary, NC, EUA). Por não atenderem ao pressuposto de

normalidade dos resíduos foram transformados com uso da matriz LOGNORMAL. Por sofrerem influências das condições e características iniciais do rebanho foram inclusas ao modelo matemático outras covariáveis, também para correção de dados de acordo com melhor ajuste do modelo. Já para comparação das médias, pelo teste de mínimos quadrados, as estimativas obtidas foram ajustadas pelo link inverso (linhas *pdiff ilink*) do procedimento GLIMMIX. As médias, quando significativas, foram comparadas usando o teste de *Tukey*. Adicionalmente, os dados de níveis de serotonina mensurados antes do início do período experimental, foram considerados dados pareados com os dados de cada tratamento durante o experimento e avaliados pelo teste T. O nível de significância para todas as avaliações foi de 5%.

3 RESULTADOS

3.1 Produção, leite residual e tempo de ordenha

Vacas expostas à massagem dessensibilizadora e a música, de forma isolada ou associadas, apresentaram produção diária de leite aproximadamente 50 a 65% superior em relação às do grupo controle. Estes resultados são condizentes e inversamente proporcionais à maior retenção de leite nas glândulas mamárias de vacas que não receberam nenhum estímulo durante a ordenha. A música não exerceu influência sobre o tempo de ordenha, entretanto, vacas que receberam massagem apresentaram duração da ordenha cerca de 13,9% maior em relação àquelas que não receberam os estímulos táteis (Tabela 3).

Tabela 3. Produção de leite, leite residual e tempo de ordenha de vacas expostas ou não à massagem dessensibilizadora e/ou música durante a ordenha.

| Variável | Música | Massagem | | Média | EPM | P-valor | | |
|------------------------|--------|----------|---------|--------|-------|----------|--------|-----------|
| | | Com | Sem | | | Massagem | Música | Mas x Mus |
| Produção leite (L/dia) | COM | 5,78Aa | 5,63Aa | 5,71 | 0,21 | 0,0086 | 0,0030 | 0,0316 |
| | SEM | 5,24Aa | 3,49Bb | 4,36 | | | | |
| | MÉD | 5,51 | 4,52 | 5,02 | | | | |
| Leite Residual (L/dia) | COM | 1,84Aa | 1,76Aa | 1,80 | 0,11 | 0,0096 | 0,0209 | 0,0025 |
| | SEM | 1,71Aa | 3,02Bb | 2,38 | | | | |
| | MÉD | 1,86 | 2,54 | 2,09 | | | | |
| Tempo Ordenha (s) | COM | 705,82 | 654,53 | 680,33 | 1,650 | 0,0060 | 0,8341 | 0,6220 |
| | SEM | 760,70 | 633,07 | 696,88 | | | | |
| | MÉD | 733,26a | 643,73b | 688,63 | | | | |

Letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem entre si ao nível de 5% de significância.

EPM – Erro padrão médio

3.2 Presença de mastite subclínica (Teste CMT)

Não houve efeito da música sobre os escores de mastite subclínica, entretanto, vacas que receberam a massagem pré-ordenha apresentaram maiores escores avaliados pelo teste CMT, quando comparadas àquelas que não receberam (Tabela 4). Cabe salientar que para todos os tratamentos os escores se mantiveram dentro das classificações de reação fraca (escore 1) e distinta positiva (escore 2).

Tabela 4. Escore de mastite subclínica de vacas expostas ou não à massagem dessensibilizadora e/ou música durante a ordenha.

| Variável | Música | Massagem | | Média | EPM | P-valor | | |
|----------|--------|----------|------|-------|------|----------|--------|-----------|
| | | Com | Sem | | | Massagem | Música | Mas x Mus |
| CMT | COM | 1,47 | 0,98 | 1,23 | 0,14 | 0,0065 | 0,103 | 0,422 |
| | SEM | 2,05 | 1,18 | 1,61 | | | | |
| | MÉD | 1,76 | 1,08 | 1,42 | | | | |

Letras minúsculas nas linhas diferem entre si ao nível de 5% de significância.

EPM – Erro padrão médio

3.3. Frequência respiratória, temperatura ocular e temperatura superficial do úbere

Independente do estímulo sonoro, vacas massageadas imediatamente antes do início da ordenha, apresentaram maior frequência respiratória em relação às que não receberam o mesmo estímulo tátil. Música e massagem associadas promoveram aumento da temperatura ocular em relação às vacas que receberam apenas a massagem, não diferindo, entretanto, daquelas que apenas ouviram música, denotando-se o claro efeito do estímulo sonoro sobre esta variável. Os fatores de enriquecimento ambiental não exerceram efeitos sobre a temperatura superficial do úbere (Tabela 5).

Tabela 5. Frequência respiratória, temperatura ocular e temperatura superficial do úbere de vacas expostas ou não à massagem dessensibilizadora e/ou música durante a ordenha.

| Variável | Música | Massagem | | Média | EPM | P-valor | | |
|-------------------------------|--------|----------|--------|-------|------|----------|--------|-----------|
| | | Com | Sem | | | Massagem | Música | Mas x Mus |
| Frequência respiratória (Rpm) | COM | 30,29 | 29,23 | 29,76 | 0,27 | 0,0003 | 0,3984 | 0,0651 |
| | SEM | 30,80 | 27,72 | 29,26 | | | | |
| | MÉD | 30,29a | 28,48b | 29,51 | | | | |

| | | | | | | | | |
|-------------------------|-----|---------|---------|-------|------|--------|---------|--------|
| Temperatura ocular (C°) | COM | 34,16Aa | 33,03Aa | 33,60 | 0,19 | 0,1111 | <0,0001 | 0,0144 |
| | SEM | 31,30Ba | 31,63Aa | 31,46 | | | | |
| | MÉD | 32,72 | 32,33 | 32,53 | | | | |
| Temperatura Úbere (C°) | COM | 32,69 | 32,67 | 32,68 | 0,2 | 0,2147 | 0,7277 | 0,2689 |
| | SEM | 33,39 | 32,30 | 32,84 | | | | |
| | MÉD | 33,04 | 32,48 | 32,76 | | | | |

Letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem entre si ao nível de 5% de significância.

EPM – Erro padrão médio

3.4. Comportamento das vacas na sala de ordenha

Não houve efeito dos tratamentos sobre os comportamentos urinar, coicear, interações sociais negativas e coçar-se. Os comportamentos de estereotípias, vocalizar e interações sociais positivas apresentaram frequência muito baixa e não foram possíveis de serem avaliados estatisticamente. Vacas que receberam a massagem imediatamente antes da ordenha apresentaram maior frequência de defecação, independente da presença ou não da música. Por sua vez, vacas expostas à música apresentaram maior frequência de gotejamento de leite antes do início da ordenha em relação àquelas que não foram expostas ao estímulo sonoro, independente da utilização da massagem (Tabela 6).

Tabela 6. Frequência comportamental de vacas expostas ou não à massagem dessensibilizadora e/ou música durante a ordenha.

| Variável | | Massagem | | Média | EPM | P-Valor | | |
|--------------|-----|----------|--------|--------|-------|---------|----------|--------|
| | | Música | Com | | | Sem | Massagem | Música |
| Urinar | COM | 0,280 | 0,310 | 0,30 | 0,055 | 0,2923 | 0,1649 | 0,5321 |
| | SEM | 0,670 | 0,620 | 0,65 | | | | |
| | MÉD | 0,481 | 0,474 | 0,48 | | | | |
| Defecar | COM | 0,530 | 0,289 | 0,42 | 0,045 | 0,0233 | 0,7146 | 0,3313 |
| | SEM | 0,425 | 0,550 | 0,49 | | | | |
| | MÉD | 0,481a | 0,423b | 0,45 | | | | |
| Vocalizar | COM | 0,153 | 0,157 | 0,16 | 0,034 | - | - | - |
| | SEM | 0,000 | 0,300 | 0,15 | | | | |
| | MÉD | 0,070 | 0,230 | 0,15 | | | | |
| Gotejar | COM | 0,282 | 0,570 | 0,428A | 0,04 | 0,6029 | 0,0497 | 0,591 |
| | SEM | 0,320 | 0,350 | 0,337B | | | | |
| | MÉD | 0,303 | 0,461 | 0,38 | | | | |
| Esterotípias | COM | 0,000 | 0,157 | 0,08 | 0,031 | - | - | - |
| | SEM | 0,000 | 0,200 | 0,10 | | | | |
| | MÉD | 0,000 | 0,179 | 0,09 | | | | |
| Coicear | COM | 0,410 | 0,078 | 0,25 | 0,064 | 0,1164 | 0,152 | 0,7263 |
| | SEM | 0,300 | 0,420 | 0,36 | | | | |

| | | | | | | | | |
|------------------------------|-----|-------|-------|------|-------|--------|--------|--------|
| | MÉD | 0,354 | 0,250 | 0,31 | | | | |
| Interações sociais negativas | COM | 0,690 | 0,105 | 0,40 | | | | |
| | SEM | 0,150 | 0,125 | 0,14 | 0,13 | 0,4216 | 0,9418 | 0,5448 |
| | MÉD | 0,417 | 0,115 | 0,27 | | | | |
| Interações sociais positivas | COM | 0,131 | 0,105 | 0,12 | | | | |
| | SEM | 0,000 | 0,070 | 0,04 | 0,03 | - | - | - |
| | MÉD | 0,064 | 0,890 | 0,08 | | | | |
| Coçar-se | COM | 0,342 | 0,078 | 0,21 | | | | |
| | SEM | 0,400 | 0,400 | 0,40 | 0,064 | 0,6891 | 0,4723 | 0,2411 |
| | MÉD | 0,371 | 0,243 | 0,31 | | | | |

Letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem entre si ao nível de 5% de significância.

EPM – Erro padrão médio

3.5. Teste de abordagem forçada do animal

Vacas expostas aos dois estímulos concomitantemente, apresentaram menor distância de fuga durante teste de abordagem forçada em relação àquelas que só receberam massagem ou as que só receberam música. Vacas que não receberam música não diferiram entre si independente de terem recebido a massagem pré-ordenha. Os resultados demonstram a interação entre os dois estímulos na redução do medo do animal em relação aos serem humanos.

Tabela 7. Distância de fuga (m) durante teste de abordagem forçada de vacas expostas ou não à massagem dessensibilizadora e/ou música durante ordenha

| Variável | Música | Massagem | | Média | EPM | P-valor | | |
|-----------------------|--------|----------|---------|-------|------|----------|--------|-----------|
| | | Com | Sem | | | Massagem | Música | Mas x Mus |
| Distância de fuga (m) | COM | 0,249Bb | 0,593Aa | 0,42 | | | | |
| | SEM | 0,808Aa | 0,615Aa | 0,71 | 0,06 | 0,309 | 0,0001 | 0,0004 |
| | MÉD | 0,52 | 0,60 | 0,57 | | | | |

Letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem entre si ao nível de 5% de significância.

EPM – Erro padrão médio

A distância de fuga foi avaliada semanalmente, desta forma, observando-se o efeito do tempo assim como suas interações com os estímulos musicais e táteis sobre essa variável. Observou-se interação entre as semanas de avaliação e o uso da música ($p=0.0026$) sendo assim realizado o desdobramento desta interação para verificar possíveis efeitos dos estímulos sonoros sobre a redução de medo dos animais ao longo do tempo. Observou-se que, independente da utilização da música, houve redução da distância de fuga ao longo das semanas experimentais, demonstrando que apenas a mudança para um manejo racional por meio de

treinamento foi eficaz na redução do medo dos animais em relação aos humanos. Entretanto, esta redução foi significativamente mais rápida para os animais expostos aos estímulos sonoros (Figura 4).

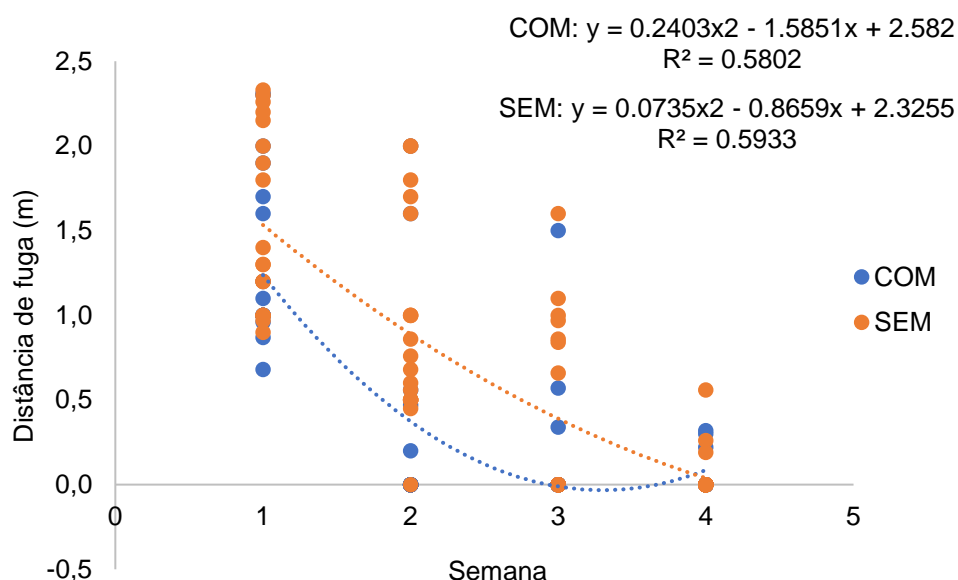


Figura 4. Desdobramento da interação ($p=0.0026$) entre efeitos da música ao longo do tempo sobre a distância de fuga (m) dos animais.

3.6 Níveis séricos de serotonina

Houve efeito isolado tanto da música quanto da massagem sobre os níveis de serotonina. Vacas que receberam a massagem pré-ordenha apresentaram níveis mais elevados de 5-HT em relação às que não receberam, assim como aquelas que ouviram música em relação às que não foram expostas aos estímulos sonoros (Tabela 8).

Tabela 8. Níveis séricos de serotonina (ng/ml) de vacas expostas ou não à massagem dessensibilizadora e/ou música durante a ordenha

| Variável | Massagem | | | MÉDIA | EPM | p-Valor | | |
|--------------------|----------|---------|---------|---------|-------|----------|---------|-----------|
| | Música | Com | Sem | | | Massagem | Música | Mas x Mus |
| Serotonina (ng/ml) | COM | 515,44 | 383,75 | 449,60A | 18,60 | <0,0001 | <0,0001 | 0,6219 |
| | SEM | 354,30 | 213,62 | 283,96B | | | | |
| | MÉD | 434,87a | 298,69b | 366,77 | | | | |

Ao compararmos os níveis de serotonina iniciais, analisados previamente aos estímulos serem fornecidos (186,2 ng/ml), observa-se que foram muito semelhantes

aos obtidos no tratamento controle ao final do experimento (213,6 ng/ml), enquanto para os demais tratamentos houve aumento significativo ($p < 0.0001$), especialmente quando ambos os estímulos foram aplicados concomitantemente (Figura 5).

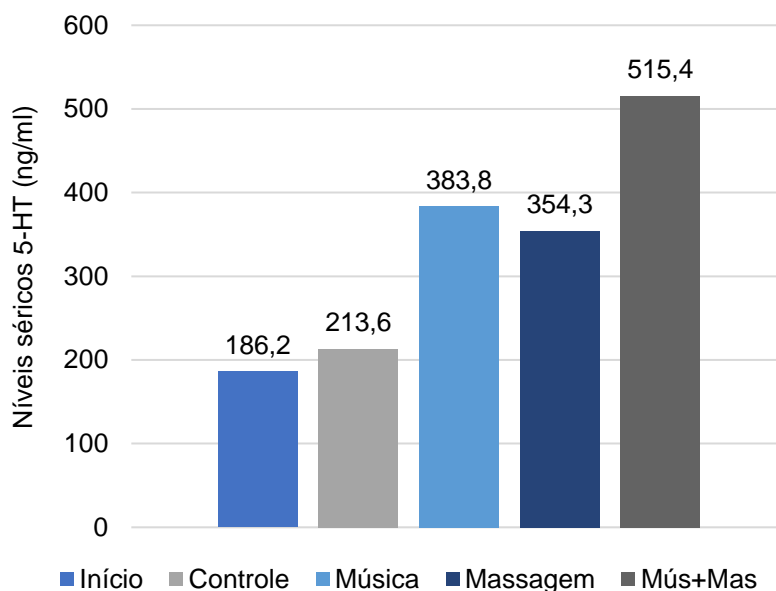


Figura 5. Níveis séricos de serotonina (ng/ml) iniciais e quatro semanas após a exposição à massagem dessensibilizadora e/ou música em vacas durante a ordenha. Valores seguidos de * diferem do controle ao teste T de dados pareados ($p < 0.0001$).

4. DISCUSSÃO

As vacas que foram estimuladas por massagem dessensibilizadora e música, isoladas ou associadas, apresentaram maior produção de leite em relação às do grupo controle, associada à menor retenção de leite nas glândulas mamárias. Para aquelas que receberam um ou ambos os estímulos, o leite residual representou de 23,80 a 24,60 % do leite total, enquanto para as vacas não estimuladas esse valor foi de aproximadamente 46,40%.

O uso da massagem resultou em maior tempo para realização da ordenha, diferentemente da música que não interferiu no tempo necessário para realização do processo, mesmo quando a produção de leite foi maior, o que indicaria uma melhora no fluxo de leite. Estas respostas podem ser corroboradas pela maior presença de gotejamento de leite antes do início da ordenha, observada nas vacas expostas aos tratamentos com música. O atraso na ejeção de leite no início da ordenha após a remoção do leite da cisterna (fluxo bimodal) tem sido associado à

problemas de saúde (Juozaitienė *et al.*, 2021), em especial do úbere (Mungube *et al.*, 2005; Bari *et al.*, 2022), o que poderia estar relacionado ao menor fluxo de leite das vacas que receberam massagem, uma vez que estas apresentaram maiores escores de mastite subclínica.

Com o objetivo de avaliar o efeito da massagem no úbere sobre a contagem de células somáticas e a produção de leite, Emamjome *et al.* (2020) submetem vacas de alta produção a este manejo duas vezes ao dia durante quatro semanas e concluíram que a massagem de longa duração diminuiu o nível de imunidade do úbere e subsequente produção de leite. Ao considerarmos, no entanto, a relação tempo de ordenha e quantidade de leite colhido por tratamento, observamos que o fluxo de leite foi pior para as vacas do grupo controle, sendo necessários 3,02 minutos por litro de leite ordenhado, em comparação àquelas que receberam apenas massagem (2,42 min/L), apenas música (1,94 min/L) ou ambos associados (2,03 min/L).

Apesar dos benefícios relatados da massagem quanto à redução da retenção de leite, e considerando que ordenhar de forma completa o maior número de vacas no menor intervalo de tempo possível é um fator primordial para maximizar o uso das instalações e mão-de-obra, a utilização apenas da música parece ser vantajosa, visto que proporcionou resultados semelhantes quanto à produção leiteira em menor tempo de ordenha.

Em vacas leiteiras 80% do leite produzido fica armazenado nas glândulas alveolares, sendo sua ejeção dependente da ação da ocitocina (OT), que desencadeia contrações das células no tecido alveolar e ductos mamários. Sendo assim, a adequada ejeção do leite exige concentrações adequadas deste hormônio, que pode e deve ser favorecida por uma série de procedimentos realizados antes e durante a ordenha (Prestes & Landim-Alvarenga, 2017). A importância da estimulação pré-ordenha do úbere, seja ela manual ou mecânica, para a adequada secreção de OT e consequente ejeção do leite já foi muito bem documentada (Schams *et al.*, 1984; Bruckmaier & Blum, 1996; Bruckmaier *et al.*, 1997; Watters *et al.*, 2015). Entretanto, em nossa pesquisa, o foco da massagem realizada não foi apenas estimular receptores neurais presentes no úbere, visto que o estímulo tátil também foi realizado na região dorsal e posterior do animal. O propósito principal foi dessensibilizar o animal ao toque e tornar a proximidade ao ser humano e consequentemente o manejo da ordenha, um momento agradável, reduzindo o

estresse e favorecendo a secreção e ação da OT, hormônio responsável não só por promover as contrações alveolares, mas também relacionado ao comportamento social e a estados mentais positivos (Rault *et al.*, 2016).

A OT liberada é transportada por meio da corrente sanguínea até seus receptores de membrana das células mioepiteliais, sendo estes receptores os mesmos utilizados pela adrenalina, normalmente liberada em situações de estresse (Borghese, Rasmussen, Thomas, 2007). Sendo assim, ambos os neurotransmissores competem por sítios de ligação, o que poderia reduzir a ligação da ocitocina e, conseqüentemente, a ejeção de leite em animais sujeitos a medo ou estresse durante a ordenha. Ademais, a adrenalina ao promover vasoconstrição periférica, reduz o fluxo de sangue e conseqüentemente a chegada de OT para a os receptores na glândula mamária (Boselli *et al.*, 2020), além de impedir sua liberação pela neurohipófise (Prestes & Landim-Alvarenga, 2017).

Para reduzir os problemas de retenção de leite nas glândulas mamárias, uma alternativa muito utilizada pelos produtores é a aplicação de ocitocina exógena, de forma a aumentar os níveis deste hormônio na corrente sanguínea enfraquecendo ou quebrando a ligação da adrenalina e permitindo sua ligação aos receptores das glândulas alveolares (Faraz *et al.*, 2020, 2021). Apesar de se apresentar como ótima opção a curto prazo, aumentando a ejeção e diminuindo o tempo de ordenha, o uso da ocitocina exógena sem o devido monitoramento e de forma recorrente, tem efeitos negativos sobre a produtividade, além dos efeitos nas características nutricionais do leite e do aumento dos custos de produção (Napolitano *et al.*, 2022).

Uma de nossas hipóteses para a menor retenção de leite nas vacas que receberam os estímulos táteis e sonoros, isolados ou associados, é de que tais métodos de enriquecimento promoveram aumento do bem-estar, associado à redução do medo e estresse durante os manejos relacionados à ordenha. Sendo assim, provavelmente houve maior secreção de ocitocina aliada à redução da secreção de adrenalina, o que favoreceu o processo de ejeção do leite. Tal hipótese de que as vacas estimuladas se encontravam em melhor condição de bem-estar e apresentavam menor medo em relação aos humanos pode ser sustentada por seus maiores níveis séricos de serotonina ao final do período experimental e menores distâncias de fuga observadas durante teste de abordagem.

Em estudo realizado com cães ocorreu aumento dos níveis de OT circulantes em resposta a carícias (Mitsui *et al.*, 2011), o que poderia corroborar com os

resultados do presente estudo, em que houve a menor retenção de leite no grupo de vacas que foram estimuladas pela massagem. Por sua vez, estudos que avaliaram a interação entre animais e humanos familiares e desconhecidos sugeriram que a liberação de OT é estimulada por pessoas familiares (Rehn *et al.*, 2014; Hernádi *et al.*, 2015), nesse sentido, o contato físico diário por meio da massagem pode contribuir para a criação de um vínculo de familiaridade entre as vacas e seus tratadores, estimulando a liberação de OT durante as interações de rotina.

No entanto, observou-se, no presente estudo, maior frequência respiratória e do comportamento de defecação durante a ordenha nas vacas expostas à massagem, característico de respostas em situações de medo e estresse. Estes dados podem estar associados ao fato de que ao início do experimento as vacas não estavam familiarizadas com os manejos propostos no presente estudo, e a maior expressão destes comportamentos na primeira semana experimental podem ter contribuído para o aumento de seus valores médios calculados para as quatro semanas de avaliação. De acordo com Rault *et al.* (2020) é importante considerar que alguns animais, principalmente os adultos, podem ter dificuldade em se adaptar ao toque, devido a experiências prévias negativas que geraram medo.

A música pode ter efeitos benéficos generalizados, mas os mecanismos subjacentes não são completamente compreendidos, especialmente em animais, deste modo, algumas das hipóteses levantadas na presente pesquisa são baseadas em estudos feitos com seres humanos. Em humanos a música envolve a ativação de uma multiplicidade de estruturas nas regiões cerebrais límbicas (hipocampo, amígdala) e paralímbicas (córtex orbitofrontal caudal, ínsula, polo temporal, giro para-hipocampal), bem como alterações neuroquímicas relacionadas à recompensa, motivação, prazer, estresse e excitação (Chanda & Levitin, 2013), além de facilitar aspectos de aprendizado e memória (Zatorre & Salimpoor, 2013; Koelsch, 2018).

Dentre as regiões e circuitos dentro do SNC ativados pela música encontram-se as mesmas estruturas límbicas que respondem à ocitocina (Boso *et al.*, 2006; Koelsch, 2014, 2018). Sabendo-se que os sistemas ocitocinérgicos influenciam comportamentos sociais, incluindo, apego, memória social e confiança (Harvey, 2020), este neurotransmissor poderia ser, portanto, um dos mediadores dos efeitos da música no organismo. As vacas de todos os tratamentos reduziram sua distância de fuga ao longo das semanas experimentais, entretanto, essa redução ocorreu de forma mais rápida para aquelas que foram estimuladas pelas músicas, o que

poderia estar relacionado à maior facilidade ou rapidez em reconhecer o novo manejo gentil adotado ao início do experimento, bem como os experimentadores, reduzindo o medo precocemente em relação às demais. Sendo assim, nossa hipótese é de que estes efeitos possam ter sido mediados por maior secreção de ocitocina promovida pela música.

Além da melhor produção e fluxo de leite, as vacas que foram expostas à música individualmente ou associada à massagem apresentaram maior temperatura ocular. Considerando que ouvir música pode promover respostas autonômicas do sistema nervoso parassimpático (SNP) provocando mudanças fisiológicas na circulação sanguínea, respiração, condutividade da pele, temperatura corporal, frequência cardíaca, etc. (Khalifa *et al.*, 2002; Bernatzky *et al.*, 2011; Chanda & Levitin, 2013) e que as atividades do sistema nervoso parassimpático são facilitadas pela ocitocina (Ooishi *et al.*, 2017), podemos inferir que a ativação do SNP estaria ligada às alterações de temperatura ocular observadas.

Emoções positivas mediadas pela ativação do SNP (Fredrickson, 2004), que controla as funções de “repouso e digestão”, desencadeiam redução da frequência cardíaca, broncoconstrição e vasodilatação (Travain & Valsecchi, 2021), desta forma, hipotetizamos que a música tenha promovido a ativação dessa subdivisão do sistema nervoso autônomo, promovendo a vasodilatação dos capilares e conseqüentemente o aumento da temperatura ocular. Corroborando com nossa hipótese, Travain *et al.* (2016) estudando os efeitos de estimulação positiva em cães, por meio da oferta de petiscos palatáveis, observaram que a temperatura ocular foi maior em comparação com a medição inicial, e o comportamento foi consistente com uma ativação positiva.

Mudanças na temperatura ocular foram usadas por Stewart *et al.* (2008a, b) para avaliar o estresse e a dor provenientes da descorna em bezerros e do uso de bastão elétrico em touros, e os autores observaram em ambos os casos, quedas rápidas na temperatura, atribuídas à redução do fluxo sanguíneo nos leitos capilares por meio de vasoconstrição. Posteriormente, os pesquisadores confirmaram sua hipótese de que a temperatura ocular é mediada pelo sistema nervoso autônomo, ao submeterem bezerros à infusão jugular de adrenalina ou soro fisiológico, observando que a temperatura ocular não sofreu alteração com a infusão salina, porém diminuiu com o aumento da concentração plasmática de adrenalina (Stewart *et al.*, 2010).

No entanto, de modo contrário, pesquisas com diferentes espécies (Bartolomé *et al.*, 2013, 2019; Rigterink, Moore, Ogata, 2018), relataram aumento da temperatura ocular quando os animais foram estimulados negativamente. Portanto, embora a temperatura ocular possa ser um indicador útil na avaliação de estados emocionais, é recomendável que sua interpretação seja acompanhada de índices comportamentais ou parâmetros fisiológicos suplementares, como no presente trabalho em que o aumento de temperatura foi associado ao aumento de serotonina, podendo ser considerado, portanto, como uma resposta positiva.

A maior parte dos trabalhos científicos utilizando a música como enriquecimento ambiental para animais de produção, e mais especificamente para vacas leiteiras, não descreve as razões, ou quais critérios foram utilizados para a escolha do gênero musical. A combinação entre características musicais como tom principal, frequência e ritmo da música influenciaram de forma diferente os níveis dos neurotransmissores Glutamato e GABA em ratos (Hao *et al.*, 2020). Considerando que os sistemas glutamatérgicos e gabaminérgicos estão relacionados com a secreção de ocitocina (Park, Skalka, Stern, 2006; Busnardo *et al.*, 2012), uma ação indireta de possíveis aumentos dos níveis de glutamato pode também estar envolvida com aumento na secreção de ocitocina.

Vacas expostas à massagem e/ou música apresentaram maiores níveis séricos de serotonina (5-HT). Durante o início da lactação a grande demanda de cálcio pela glândula mamária excede a quantidade de reservas extracelulares e sua reposição, sendo necessária uma mudança dinâmica em seu metabolismo (Connelly *et al.*, 2022). Os níveis de cálcio no sangue são estritamente regulados por um processo homeostático controlado por vitamina D, proteínas e hormônios, sendo um deles a serotonina, em um ciclo de feedback negativo (Reinhardt *et al.*, 2011). Concentrações aumentadas de 5-HT induzem aumento da expressão dos principais transportadores de Ca (ORAI1 e PMCA2) aumentando sua excreção no leite ocasionando uma hipocalcemia transitória (Reinhardt *et al.*, 2004; VanHouten, Neville, Wysolmerski, 2007; Hernandez, 2017).

A serotonina pode estimular diretamente a proteína relacionada ao paratormônio (PTHrP) derivada da glândula mamária, que após sua liberação na circulação, pode, ligar-se aos receptores ósseos e agir para liberar os estoques de Ca para recuperar suas concentrações sanguíneas (Conely, Cheng, Hernandez, 2021). Sendo assim, além dos benefícios relacionados ao bem-estar animal, os

estímulos utilizados na presente pesquisa podem auxiliar na modulação do metabolismo do cálcio durante fases críticas, como o início da lactação. Ademais, pesquisas recentes demonstraram que as manipulações do metabolismo de Ca e 5-HT podem resultar em efeitos positivos inclusive na lactação subsequente (Rodney *et al.*, 2018; Slater *et al.*, 2018).

5. CONCLUSÕES

A utilização de estímulos sensoriais, como a massagem dessensibilizadora e música durante a ordenha, promovem melhorias no bem-estar e na produtividade das vacas leiteiras, especialmente pela redução na retenção de leite nas glândulas mamárias. Os estímulos também se mostraram eficientes em reduzir a reatividade das vacas aos manejos diários realizados durante a ordenha, bem como indicam a possibilidade de menor dependência da utilização da ocitocina exógena como indutor de maior ejeção de leite no momento da ordenha. Apesar dos achados indicarem que ambos os estímulos são benéficos, a massagem pode desencadear processos indesejados como o aumento de mastite subclínica, demandando cuidados em sua execução. Por outro lado, o estímulo musical não possui tais efeitos, sendo seus benefícios obtidos com menores limitações quando comparado ao estímulo tátil.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alworth, L.C.; Buerkle, S.C. (2013). The effects of music on animal physiology, behavior and welfare. *Lab Animal*, 42:54–61. <https://doi.org/10.1038/lablan.162>

Andrioli, M.; Carvalhal, M.; Costa, F.; Costa, M. J. R. P. (2020). Efeitos da interação humano-animal no bem-estar de ruminantes leiteiros: Uma Revisão. *Veterinária e Zootecnia*, 27: 001-014. <https://doi.org/10.35172/rvz.2020.v27.497>

Ball, N. J.; Mercado, E.; Orduña, I. (2019). Enriched Environments as a Potential Treatment for Developmental Disorders: A Critical Assessment. *Frontiers in Psychology*, 10:466. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2019.00466>

Bari, M.S.; Rahman, M.M.; Persson, Y.; Derks, M.; Sayeed, M.A.; Hossain, D.; Singha, S., Hoque, M.A.; Sivaraman, S.; Fernando, P.; Ahmad, I.; Samad, A., Koop, G. (2022). Subclinical mastitis in dairy cows in south-Asian countries: a review of risk factors and etiology to prioritize control measures. *Veterinary Research Communications*, 46(3):621-640. <https://doi.org/10.1007/s11259-022-09948-x>

Bartolomé, E.; Sánchez, M. J.; Molina, A.; Schaefer, A. L.; Cervantes, I.; Valera, M. (2013). Using eye temperature and heart rate for stress assessment in young horses competing in jumping competitions and its possible influence on sport performance. *Animal*, 7(12): 2044–2053. <https://doi.org/10.1017/S1751731113001626>

Bartolomé, E.; Azcona, F.; Cañete-Aranda, M.; Perdomo-González, D.I.; Ribes-Pons, J.; Terán, E.M. (2019). Testing eye temperature assessed with infrared thermography to evaluate stress in meat goats raised in a semi-intensive farming system: a pilot study. *Archives Animal Breeding*, 62(1): 199-204. <https://doi.org/10.5194/aab-62-199-2019>

Bernatzky, G.; Presch, M.; Anderson, M.; Panksepp, J. (2011). Emotional foundations of music as a non-pharmacological pain management tool in modern medicine. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 35(9):1989–1999. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.06.005>

Borghese, A.; Rasmussen, M.; Thomas, C.S. (2007). Milking management of dairy buffalo. *Italian Journal of Animal Science*, v6(sup2):39-50. <https://doi.org/10.4081/ijas.2007.s2.39>

Boselli, C.; De Marchi, M.; Costa, A.; Borghese, A. (2020). Study of milkability and its relation with milk yield and somatic cell in Mediterranean Italian Water Buffalo. *Frontiers in Veterinary Science*, 7: 432. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00432>

Boso, M.; Politi, P.; Barale, F., Emanuele, E. (2006). Neurophysiology and neurobiology of the musical experience. *Functional Neurology*, 21(4):187–91.

Bruckmaier, R.M.; Blum, J.W. (1996). Simultaneous recording of oxytocin release, milk ejection and milk flow during milking of dairy cows with and without prestimulation. *Journal of Dairy Research*, 63(2): 201-208. <https://doi.org/10.1017/s0022029900031708>.

Bruckmaier, R.M.; Wellnitz, O.; Blum, J.W. (1997) Blum Inhibition of milk ejection in cows by oxytocin receptor blockade, alpha-adrenergic receptor stimulation and in unfamiliar surroundings *The Journal of Dairy Research*, 64(3):315-325. <https://doi.org/10.1017/s002202999700232x>

Busnardo, C.; Crestani, C. C.; Resstel, L. B.; Tavares, R. F.; Antunes-Rodrigues, J.; Corrêa, F. M. (2012). Ionotropic glutamate receptors in hypothalamic paraventricular and supraoptic nuclei mediate vasopressin and oxytocin release in unanesthetized rats. *Endocrinology*, 153(5):2323–2331. <https://doi.org/10.1210/en.2011-2079>

Cerqueira, J. L.; Araújo, J. P.; Sorensen, J. T.; Niza-Ribeiro, J. (2011). Some indicators for the assessment of welfare in dairy cows – a review, *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 110(577-580): 5-19.

Chanda, M. L.; Levitin, D. J. (2013). The neurochemistry of music. *Trends in Cognitive Sciences*, 17(4): 179–193. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2013.02.007>

Ciborowska, P.; Michalczyk, M.; Bień, D. (2021). The Effect of Music on Livestock: Cattle, Poultry and Pigs. *Animals*, 11(12): 3572. <https://doi.org/10.3390/ani11123572>

Connelly, M. K.; Cheng, A. A.; Hernandez, L. L. (2021). Graduate Student Literature Review: Serotonin and calcium metabolism: A story unfolding. *Journal of Dairy Science*, 104(12):13008-13019. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20610>

Connelly, M.K.; Henschel, S.R.; Kuehnl, J.M.; Cheng, A.A.; Nashold, F.; Hernandez, L.L. (2022). Physiological adaptations in early-lactation cows result in differential responses to calcium perturbation relative to nonlactating, nonpregnant cows. *Journal of Dairy Science*, 105(1): 904-920. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20890> .

Emamjome, E.; Khashayar, K.; Azimpour, S.; fartashvand, M.; Pourtaghi, H. (2020). 'Evaluation of the effect of local massage on milk production and udder immunity of dairy cows', *Veterinary Clinical Pathology The Quarterly Scientific Journal*, 14(55): 209-217. <https://doi.org/10.30495/jvcp.2020.1873924.1242>

Faraz, A.; Waheed, A.; Nazir, M. M.; Hameed, A.; Tauqir, N. A.; Mirza, R. H.; Bilal, R. M. (2020). Impact of oxytocin administration on milk quality, reproductive performance and residual effects in dairy animals – a review. *Punjab University Journal of Zoology*, 35(1): 61-67. <https://dx.doi.org/10.17582/journal.pujz/2020.35.1.61.67>

Faraz, A.; Tauqir, N. A.; Waheed, A.; Hameed, A. (2021). Effect of exogenous oxytocin administration on the performance of lactating Nili Ravi buffalo. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 11(3): 517-525. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.2251628.2021.11.3.10.6>

Fredrickson, B. L. (2004). The broaden–and–build theory of positive emotions. *Philosophical transactions of the royal society of London. Series B: Biological Sciences*, 359(1449): 1367-1377. <https://doi.org/10.1098/rstb.2004.1512>

Hao, J.; Jiang, K.; Wu, M.; Yu, J.; Zhang, X. (2020). The effects of music therapy on amino acid neurotransmitters: Insights from an animal study. *Physiology & Behavior*, 224:113024. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.113024>

Harvey, A.R. (2020). Links Between the Neurobiology of Oxytocin and Human Musicality. *Frontiers in Human Neuroscience*, 14:350. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2020.00350> .

Hemsworth, P.H.; Coleman, G.J. (2011). *Human-livestock interactions: The stockperson and the Productivity of Intensively Farmed Animals*, second ed. CABI International, Wallingford, UK. **SBN: 978-184593673-0**

Hernádi, A.; Kis, A.; Kanizsár, O.; Tóth, K.; Miklósi, B.; Topál, J. (2015). Intranasally administered oxytocin affects how dogs (*Canis familiaris*) react to the threatening approach of their owner and an unfamiliar experimenter. *Behavioural Processes*, 119: 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2015.07.001>

Hernandez, L.L. (2017). TRIENNIAL LACTATION SYMPOSIUM/BOLFA: Serotonin and the regulation of calcium transport in dairy cows. *Journal of Animal Science*, 95(12): 5711-5719. <https://doi.org/10.2527/jas2017.1673> .

Juozaitienė, V.; Antanaitis, R.; Urbonavičius, G.; Urbutis, M.; Tušas, S.; Baumgartner, W. (2021). Can Milk Flow Traits Act as Biomarkers of Lameness in Dairy Cows? *Agriculture*, 11:227. <https://doi.org/10.3390/agriculture11030227>

Khalfa, S.; Isabelle, P.; Jean-Pierre, B.; Manon, R. (2002). Event-related skin conductance responses to musical emotions in humans. *Neuroscience Letters*, 328(2): 145-149. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(02\)00462-7](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(02)00462-7)

Kim, S.M.; Cho, G.J. (2021). Validation of Eye Temperature Assessed Using Infrared Thermography as an Indicator of Welfare in Horses. *Applied Sciences*, 11(16):7186. <https://doi.org/10.3390/app11167186>

Koelsch S. (2014). Brain correlates of music-evoked emotions. *Nature reviews. Neuroscience*, 15(3): 170–180. <https://doi.org/10.1038/nrn3666>

Koelsch S. (2018). Investigating the neural encoding of emotion with music. *Neuron*, 98(6): 1075–1079. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.04.029>

Lees, A. M.; Lees, J. C.; Sejian, V.; Wallage, A. L.; Gaughan, J. B. (2018). Using infrared thermography as an in-situ measure of core body temperature in lot-fed angus steers. *International Journal of Biometeorology*, 62(1): 3-8. <https://doi.org/10.1007/s00484-017-1433-y>

Leite, L. O., Bezerra, B. M. O., Kogitzki, T. R., Polo, G., Freitas, V. J. D. F., Hötzel, M. J.; Nunes-Pinheiro, D. C. S. (2020). Impacto da massagem em cabras na relação homem-animal e parâmetros relacionados à resposta fisiológica. *Ciência Rural*, 50(9): e20200105. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200105>

Lemcke, M. C.; Ebinghaus, A.; Knierim, U. (2021). Impact of music played in an automatic milking system on cows' milk yield and behavior—a pilot study. *Dairy*, 2(1): 73-78. <https://doi.org/10.3390/dairy2010007>

Liu, J.; Xu, C.; Li, C.; Zhang, B.; Wang, Z. Wang, C.; Yu, X. (2017). Effects of Different Types of Music on Lactation and Antioxidant Capacity of Dairy Cows. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 44(5):1388-1392. <https://doi.org/10.16431/j.cnki.1671-7236.2017.05.019>

Lippi, I.C.C.; Caldara, F.R.; Almeida-Paz, I.C.d.L.; Morais, H.B.; Odakura, A.M.; Konkiewitz, E.C.; Ferreira, W.S.; Fraga, T.L.; Burbarelli, M.F.C.; Felix, G.A.; Garcia, R.G.; Santos, L.S. (2022). Effects of Music Therapy on Neuroplasticity, Welfare, and Performance of Piglets Exposed to Music Therapy in the Intra- and Extra-Uterine Phases. *Animals* 12: 2211. <https://doi.org/10.3390/ani12172211>

Lippi, I.C.C.; Caldara, F.R.; Morais, H.B.; Vargas, L.B.; Odakura, A.M.; Burbarelli, M.F.C.; Felix, G.A.; Garcia, R.G.; Almeida-Paz, I.C.L.; Santos, L.S. (2023). Effects of Auditory Enrichment on Welfare and Performance of Sows During Pregnancy and Farrowing/lactation Periods. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 24:1-17. <https://doi.org/10.1080/10888705.2023.2215930>

Mandel, R.; Whay, H. R.; Klement, E.; Nicol, C. J. (2016). Invited review: Environmental enrichment of dairy cows and calves in indoor housing. *Journal of Dairy Science*, 99(3): 1695–1715. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9875>

Martin, J. E.; Ison, S. H.; Baxter, E. M. (2015). The influence of neonatal environment on piglet play behaviour and post-weaning social and cognitive development. *Applied Animal Behaviour Science*, 163: 69-79. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2014.11.022> .

Mitsui, S.; Yamamoto, M.; Nagasawa, M.; Mogi, K.; Kikusui, T.; Ohtani, N.; Ohta, M. (2011). Urinary oxytocin as a noninvasive biomarker of positive emotion in dogs. *Hormones and behavior*, 60(3): 239–243. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2011.05.012>

Mungube, E. O.; Tenhagen, B.A.; Regassa, F.; Kyule, M.N.; Shiferaw, Y.; Kassa, T.; Baumann, M.P.O. (2005). “Reduced milk production in udder quarters with subclinical mastitis and associated economic losses in crossbred dairy cows in Ethiopia.” *Tropical Animal Health and Production*, 37(6): 503-512. <https://doi.org/10.1007/s11250-005-7049-y>

Napolitano, F.; Braghieri, A., Bragaglio, A.; Rodríguez-González, D.; Mora-Medina, P.; Ghezzi, M. D.; Mota-Rojas, D. (2022). Neurophysiology of Milk Ejection and Prestimulation in Dairy Buffaloes. *Animals*, 12(19): 2649 <https://doi.org/10.3390/ani12192649>

Ooishi Y.; Mukai H.; Watanabe K.; Kawato S.; Kashino M. (2017). Increase in salivary oxytocin and decrease in salivary cortisol after listening to relaxing slow-tempo and exciting fast-tempo music. *PLoS One*, 12:e0189075. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189075>

Park, J. B., Skalska, S., Stern, J. E. (2006). Characterization of a novel tonic gamma-aminobutyric acidA receptor-mediated inhibition in magnocellular neurosecretory neurons and its modulation by glia. *Endocrinology*, 147(8): 3746–3760. <https://doi.org/10.1210/en.2006-0218>

Prestes, N. C.; Landim-Alvarenga, F. C. *Obstetrícia veterinária*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. CAP.7 página: 124-130

Probst, J. K.; Neff, A. S.; Leiber, F.; Kreuzer, M.; Hillmann, E. (2012). Gentle touching in early life reduces avoidance distance and slaughter stress in beef cattle. *Applied Animal Behaviour Science*, 139(1-2):42-49. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2012.03.002>

Rault, J.L. (2016). Effects of positive and negative human contacts and intranasal oxytocin on cerebrospinal fluid oxytocin. *Psychoneuroendocrinology*, 69: 60-66. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.03.015>

Rault, J. L.; Waiblinger, S.; Boivin, X.; Hemsworth, P. (2020). The power of a positive human–animal relationship for animal welfare. *Frontiers in Veterinary Science*, 7: 590867. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.590867>

Rehn, T.; Handlin, L.; Uvnäs-Moberg, K.; Keeling, L. J.. (2014). Dogs' endocrine and behavioural responses at reunion are affected by how the human initiates contact. *Physiology & Behavior*, 124: 45-53. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2013.10.009>

Reinhardt, T.A.; Lippolis, J.D.; Shull, G.E.; Horst, R.L. (2004) Null mutation in the gene encoding plasma membrane Ca²⁺-ATPase isoform 2 impairs calcium transport into milk. *Journal of Biological Chemistry*, 279(41): 42369–42373. <https://doi.org/10.1074/jbc.M407788200>

Reinhardt, T.A.; Lippolis, J.D.; McCluskey, B.J.; Goff, J.P.; Horst, R.L. (2011) Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *Veterinary Journal*, 188(1): 122–124. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.03.025>

Rezende, E. D. S. J., Moura, D. J., Pereira, J. L. D. A. R., Ferraz, M. A. J., Ferraz, G. A. J., Faria, J. E.; Ferreira, Y. D. G. (2022). Análise de associação entre imagens termográficas e diagnóstico de mastite. *Brazilian Journal of Development*, 8(3): 15532-15542. <https://doi.org/10.34119/bjhrv5n2-004>

Rigterink, A.; Moore, G. E.; Ogata, N. (2018). Pilot study evaluating surface temperature in dogs with or without fear-based aggression. *Journal of Veterinary Behavior*, 28: 11-16. <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2018.07.009>

Rodney, R. M.; Martinez, N.; Block, E.; Hernandez, L. L.; Celi, P.; Nelson, C. D.; Santos, J.E.P.; Lean, I. J. (2018). Effects of prepartum dietary cation-anion difference and source of vitamin D in dairy cows: Vitamin D, mineral, and bone metabolism. *Journal of Dairy Science*, 101(3): 2519-2543. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13737>

Schams, D.; Mayer, H.; Prokopp, A.; Worstorff, H. (1984). Oxytocin secretion during milking in dairy cows with regard to the variation and importance of a threshold level for milk removal. *Journal of Endocrinology*, 102(3):337-343. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1020337>

Slater, C. J.; Endres, E. L.; Weaver, S. R.; Cheng, A. A.; Lauber, M. R.; Endres, S. F.; Olstad, E.; DeBruin, A.; Crump, P.M.; Block, E.; Hernandez, L. L. (2018). Interaction of 5-hydroxy-l-tryptophan and negative dietary cation-anion difference on calcium homeostasis in multiparous peripartum dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 101(6): 5486-5501. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13938>

Stewart, M.; Stafford, K. J.; Dowling, S. K.; Schaefer, A. L.; Webster, J. R. (2008a). Eye temperature and heart rate variability of calves disbudded with or without local anaesthetic. *Physiology & Behavior*, 93(4-5): 789-797. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.11.044>

Stewart, M.; Schaefer, A.L.; Haley, D.B.; Colyn, J.; Cook, N.J.; Stafford, K.J.; Webster, J.R. (2008b). Infrared thermography as a non-invasive method for detecting fear-related responses of cattle to handling procedures. *Animal Welfare*, 17: 387-393. <https://doi.org/10.1017/S0962728600027895>

Stewart, M.; Webster, J. R.; Stafford, K. J.; Schaefer, A. L.; Verkerk, G. A. (2010). Effects of an epinephrine infusion on eye temperature and heart rate variability in bull calves. *Journal of Dairy Science*, 93(11): 5252-5257. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3448>

Travain, T.; Colombo, E.S.; Grandi, L.C.; Heinzl, E.; Pelosi, A.; Previde, E.P.; Valsecchi, P. (2016). How good is this food? A study on dogs' emotional responses to a potentially pleasant event using infrared thermography. *Physiology & Behavior*, 159: 80-87, <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.03.019>

Travain, T.; Valsecchi, P. (2021). Infrared thermography in the study of animals' emotional responses: A critical review. *Animals*, 11(9): 2510. <https://doi.org/10.3390/ani11092510>

VanHouten J. N.; Neville M. C.; Wysolmerski J. J. (2007). The calcium-sensing receptor regulates plasma membrane calcium adenosine triphosphatase isoform 2 activity in mammary epithelial cells: A mechanism for calcium-regulated calcium transport into milk. *Endocrinology*, 148(12): 5943–5954. <https://doi.org/10.1210/en.2007-0850>

Watters, R.D.; Rupert, M.; Bruckmaier, R.M.; Crawford, H.M.; Schuring, N.; Schukken, Y.H.; Galton, D.M. (2015). The effect of manual and mechanical stimulation on oxytocin release and milking characteristics in Holstein cows milked 3 times daily, *Journal of Dairy Science*, 98(3): 1721-1729. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8335> .

Zatorre R. J., Salimpoor V. N. (2013). From perception to pleasure: music and its neural substrates. *PNAS*, 110(supplement 2): 10430–10437. <https://doi.org/10.1073/pnas.1301228110>

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A introdução de técnicas de bem-estar animal tem como consequência principal o aumento na produção de leite. Além disso, priorizar o treinamento de manejadores em técnicas não aversivas permite que eles compreendam as necessidades dos animais e adotem abordagens adequadas no manejo das vacas produtoras de leite, sem recorrer à violência. A interação homem-animal desempenha um papel fundamental no bem-estar dos animais, e, portanto, é possível melhorar a rotina de ordenha com base nos comportamentos expressos pelos animais nesse momento.

A utilização da musicoterapia e da massagem dessensibilizante tem se mostrado muito eficaz, resultando na redução dos níveis de estresse e na promoção da liberação do leite das vacas. Esses resultados indicam que a introdução da massagem dessensibilizante, aliada a instrumentos adequados, representa uma nova proposta de manejo que contribui para uma interação humano-animal mais positiva. No entanto, é importante considerar que essa interação ainda é influenciada pelo perfil dos manejadores e suas abordagens individuais, assim como pelas técnicas e metodologias de enriquecimento ambiental, como a massagem e a escolha da música. É necessário iniciar os animais em processos de aclimação e dessensibilização, visando a adaptação a essas técnicas. Os resultados obtidos nesse experimento demonstraram a redução de comportamentos negativos relacionados ao estresse durante a ordenha, como micção, defecação, leite residual e distância de fuga.

Adotar práticas de bem-estar animal e aplicar boas técnicas de manejo são de extrema importância para melhorar as condições dos animais e aumentar a produtividade nas propriedades rurais. Portanto, técnicas de enriquecimento ambiental, como a massagem dessensibilizante e a musicoterapia, podem ser consideradas ferramentas essenciais para promover um ambiente confortável aos animais, melhorar a interação humano-animal e facilitar o manejo da ordenha, resultando em aumento dos índices produtivos.