



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DO ESTRESSE NO MANEJO PRÉ-EMBARQUE  
E TRANSPORTE DE BOVINOS**

**HILANA DOS SANTOS SENA BRUNEL**

**TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS**

**BRASÍLIA/DF  
DEZEMBRO DE 2015**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DO ESTRESSE NO MANEJO PRÉ-EMBARQUE  
E TRANSPORTE DE BOVINOS**

**HILANA DOS SANTOS SENA BRUNEL**

**ORIENTADOR: FRANCISCO ERNESTO MORENO BERNAL**

**TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS**

**PUBLICAÇÃO: 145D/2015**

**BRASÍLIA/DF  
DEZEMBRO DE 2015**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DO ESTRESSE NO MANEJO PRÉ- EMBARQUE  
E TRANSPORTE DE BOVINOS**

**HILANA DOS SANTOS SENA BRUNEL**

**TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA AO PROGRAMA  
DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS ANIMAIS, COMO  
PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À  
OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTORA EM CIÊNCIAS  
ANIMAIS.**

**APROVADA POR:**

---

Francisco Ernesto Moreno Bernal, Prof. Dr. (Universidade de Brasília – UnB)  
(ORIENTADOR)

---

Clayton Quirino Mendes, Prof. Dr. (Universidade de Brasília – UnB)  
(EXAMINADOR INTERNO)

---

Rodrigo Vidal Oliveira, Prof. Dr. (Universidade de Brasília – UnB)  
(EXAMINADOR INTERNO)

---

Félix Hilario Diaz González, Prof. Dr.  
(Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS)  
(EXAMINADOR EXTERNO)

---

Josélio de Andrade Moura, Dr. (Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária – SBMV)  
(EXAMINADOR EXTERNO)

BRASÍLIA/DF, 10 de DEZEMBRO de 2015

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, inicialmente, a Deus, criador das oportunidades, detentor das vitórias.

Ao meu marido, Ricardo, pelo apoio, incentivo, por me ajudar a não fraquejar, por me fazer acreditar em mim mesma.

Aos meus pais, Adelcino e Elice, por todo o amor, meus exemplos.

Ao meu irmão, Helano, minha cunhada, Paula, meu sobrinho, Lucas, pelos momentos de felicidade.

Toda a minha família: agradeço o apoio.

Agradeço aos meus filhos de 4 patas – Rhonda, Kyara e Conan – por me proporcionarem momentos de diversão durante a jornada.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Francisco, pelo acompanhamento de todo o processo.

À Prof. Dra. Concepta, pela realização da análise estatística.

Ao Dr. Bruno Dallago, pelo auxílio em inúmeros procedimentos.

À Dra. Vanessa e Dra. Candice, pela ajuda na interpretação dos resultados e todo o pessoal da salinha, por compartilhar os momentos de alegria e tristeza.

Ao Dr. Josélio Moura, pelo empréstimo da fazenda onde o experimento foi realizado.

À CAPES, pelo auxílio financeiro.

Ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, pelo suporte.

A todos os envolvidos direta e indiretamente na realização desse trabalho, meus sinceros agradecimentos.

## INDICE

CAPÍTULO 1 .....	1
1 INTRODUÇÃO.....	2
1.1 Justificativa.....	4
1.2 Objetivos.....	5
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	6
2.1 Tendência dos consumidores mundiais em relação ao bem-estar animal.....	6
2.2 Formas de manejo e o bem-estar de bovinos.....	8
2.3 Transporte de carga-viva e bem-estar animal.....	11
2.4 A raça de bovinos utilizada.....	13
2.5 Indicadores fisiológicos do bem-estar animal.....	14
2.6 Parâmetros Hematológicos de bovinos .....	16
2.7 Parâmetros Bioquímicos de bovinos.....	18
2.8 Estresse e qualidade da carne.....	19
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20
CAPÍTULO 2.....	29
RESUMO.....	30
ABSTRACT.....	31
1 INTRODUÇÃO.....	32
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	34
2.1 Local.....	34
2.2 Animais e instalações.....	34
2.3 Método de manejo.....	35
2.4 Método de transporte.....	36
2.5 Coleta, processamento e análise das amostras.....	37
2.6 Métodos estatísticos.....	37
2.7 Aprovação da comissão de ética no uso animal (CEUA).....	38
3 RESULTADOS.....	39
3.1 Hemograma.....	39
3.2 Leucograma.....	42
4 DISCUSSÃO.....	46
5 CONCLUSÃO.....	51
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

CAPÍTULO 3.....	55
RESUMO.....	56
ABSTRACT.....	57
1 INTRODUÇÃO.....	58
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	60
2.1 Local.....	60
2.2 Animais e instalações.....	60
2.3 Método de manejo.....	61
2.4 Método de transporte.....	62
2.5 Coleta, processamento e análise das amostras.....	63
2.6 Métodos estatísticos.....	63
2.7 Aprovação da comissão de ética no uso animal (CEUA).....	63
3 RESULTADOS.....	64
4 DISCUSSÃO.....	69
5 CONCLUSÃO.....	73
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
CAPÍTULO 4.....	78
RESUMO.....	79
ABSTRACT.....	80
1 INTRODUÇÃO.....	81
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	83
2.1 Local.....	83
2.2 Animais e instalações.....	83
2.3 Método de manejo.....	84
2.4 Método de transporte.....	85
2.5 Coleta, processamento e análise das amostras.....	86
2.6 Métodos estatísticos.....	86
2.7 Aprovação da comissão de ética no uso animal (CEUA).....	87
3 RESULTADOS.....	88
4 DISCUSSÃO.....	90
5 CONCLUSÃO.....	92
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93
CAPÍTULO 5.....	97

CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	98
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	100

## RESUMO

### **AValiação de parâmetros do estresse no manejo pré-embarque e transporte de bovinos**

Hilana dos Santos Sena Brunel<sup>1</sup>, Francisco Ernesto Moreno Bernal<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – UnB, DF.

Foi realizada a avaliação do grau de bem-estar em bovinos jovens da raça Nelore. Para tal, foram analisados parâmetros fisiológicos de 24 animais submetidos a três diferentes tipos de manejo para embarque em caminhão de transporte (manejo tradicional – rústico –, com treinamento – gentil e com bandeira) e três diferentes tempos de viagem (24, 48 e 72 horas). Sangue e fezes foram coletados ao embarque e desembarque dos bovinos para análise do perfil hematológico (hemograma, leucograma, contagem de plaquetas), bioquímico sérico e cortisol. Foram observadas alterações relativas ao estresse em diversos momentos, não havendo um padrão claro de respostas relativo a um tempo ou tipo de manejo específicos. Ficou claro que houve desidratação dos animais, pelas alterações nas proteínas sanguíneas, requisição energética, devido às alterações em níveis de glicose, lesão muscular mostrada pelas concentrações de creatina-quinase. Ainda, evidenciaram-se alterações no cortisol, demonstrando tanto o estresse por manejo e viagem quanto a possível habituação ao final do experimento. Dessa forma, diversas alterações fisiológicas foram observadas, mostrando que transporte rodoviário e seus procedimentos de embarque e desembarque são responsáveis pela saída do estado de homeostase, o que compromete o bem-estar dos indivíduos.

**Palavras-chave:** desidratação, estresse, homeostase, parâmetros fisiológicos.

## ABSTRACT

### EVALUATION OF STRESS PARAMETERS IN THE PRE LOADING HANDLING AND TRANSPORT OF CATTLE

Hilana dos Santos Sena Brunel<sup>1</sup>, Francisco Ernesto Moreno Bernal<sup>1</sup>

<sup>1</sup>School of Agronomy and Veterinary Medicine – UnB, DF

The evaluation of the degree of welfare in young Nelore bulls was held. To do this, physiological parameters of 24 animals submitted to three different types of handling to load a transport truck (traditional - rustic - with training – kind and with flag) and three different travel times (24, 48 and 72 hours). Blood and feces were collected at each loading and unloading of cattle for analysis of hematological parameters (blood count, white blood cell count, and platelet count), serum biochemical and cortisol. Stress-related changes were observed at various times, with no clear pattern of responses on a time or type of handling. It was clear that there was dehydration of the animals, changes in blood protein, energy request, due to changes in glucose levels, muscle damage shown by the concentrations of creatine kinase. In addition, there were changes in cortisol, demonstrating stress related to handling and transportation and possible habituation by the end of the experiment. Thus, various physiological changes were observed, showing that road transport and their loading and unloading procedures are responsible for the output of the state of homeostasis, which compromises the welfare of individuals.

**Keywords:** dehydration, homeostasis, physiological parameters, stress.

## **CAPÍTULO 1**

## 1 INTRODUÇÃO

O impacto que o bem-estar animal causa na cadeia de produção de alimentos já é conceito concreto e aceito em países europeus e está se tornando realidade também no Brasil. Inicialmente, a saúde animal e o estresse no manejo pré-abate causam efeitos diretos na qualidade da carne e ainda, a população já reclama por produtos de animais que tenham sido criados e abatidos em condições humanitárias. Dessa forma, o bem-estar animal está passando a integrar o conceito de “alimento de qualidade” (Blokhuis et al., 2008).

Por possuir um conceito amplo, o bem-estar animal abrange uma infinidade de parâmetros e indicadores, entre eles os fisiológicos (Grandin, 1997). Qualquer alteração que tire o animal de seu estado de homeostase, modificando a fisiologia pode ser considerada influente no bem-estar dos indivíduos (Gupta et al., 2007). Dessa forma, no caso de bovinos de corte, quando se considera animais criados extensivamente, sabe-se que um dos momentos de intenso estresse é o manejo pré-abate, incluindo o embarque, transporte, desembarque, e os protocolos utilizados no processo (Van de Water et al., 2003).

Estudos realizados com o objetivo de determinar o nível de estresse causado aos animais de produção durante procedimentos de manejo e transporte geralmente têm resultados variáveis e são de difícil interpretação do ponto de vista do bem-estar animal, visto que é um tema amplo. Procedimentos como o confinamento em pequenos espaços para transporte, por exemplo, podem não causar dor, mas trazem o medo, sendo esse um intenso estressor psicológico em animais que são criados extensivamente. De forma geral, o medo é um evento estressante difícil de prever e mensurar, pois está diretamente relacionado às experiências prévias de cada indivíduo (Grandin, 1997).

Apesar da imprecisão a respeito do nível de estresse causado pelo transporte, sabe-se que esse evento é um estressor em sistemas produtivos de bovinos, podendo ser

responsável por grandes prejuízos tanto no bem-estar dos animais quanto na economia do sistema (Ishizaki & Kariya, 2010). A realização de procedimento de embarque, transporte e desembarque de animais não acostumados ao contato humano pode ser prejudicial à obtenção do produto final, no caso, a carne. A dificuldade de locomoção, entrada e saída em caminhão não completamente adaptado ao transporte de carga-viva pode causar inúmeros prejuízos dada a possibilidade de lesões cutâneas, musculares, fraturas e pela possível mudança metabólica ocorrida no animal durante o processo, o que pode levar à diminuição na qualidade final do produto (Grandin, 2003). Dessa forma, os efeitos adversos relacionados ao transporte afetam, não só o bem-estar dos animais, mas também a qualidade do produto final, ocasionando perdas econômicas. Sendo assim, tanto do ponto de vista da saúde e integridade dos animais quanto dos aspectos financeiros, é preciso otimizar as formas e tempos de transporte dos animais para minimizar os tipos de danos (Van de Water et al., 2003).

A forma de manejar os animais também é algo que afeta a produtividade, já sendo reconhecido há anos que um bom manejo, calmo, torna-se mais eficiente do que o manejo rústico, sendo que o diferencial é o comportamento do manejador (Grandin, 2003). Já é sabido que a agitação dos animais com o comprometimento do seu bem-estar afeta, inclusive, sua saúde, já que indivíduos submetidos a constantes episódios de agitação por submissão a manejo rústico foram mais afetados por doenças (Voisinet et al., 1997; Fell et al., 1999), verificando-se, dessa maneira, que até parâmetros imunológicos são alterados pelo estresse.

Dessa forma, objetivou-se com esse trabalho verificar qual seria a melhor forma de manejo de bovinos da raça Nelore durante o procedimento de pré-embarque, bem como avaliar o efeito de diferentes tempos de transporte. Para isso, foi realizada a avaliação do perfil hematológico dos bovinos submetidos a três formas de manejo pré-embarque com seus respectivos embarque e desembarque e a análise da influência de três tempos de viagem sobre os parâmetros hematológicos desses animais e sobre o peso dos indivíduos. Ainda, foi avaliada a possível recuperação pós-transporte em diferentes períodos de descanso após o período de transporte realizado.

## 1.1 Justificativa

O manejo realizado de forma rústica é a maneira tradicional utilizada em bovinos de corte no Brasil. Esses animais costumam passar grande parte da vida em ambiente aberto, no pasto, com pouco contato direto com humanos e, no momento do manejo pré-abate são levados de forma agressiva para o caminhão para passar por longas jornadas de transporte. Com o surgimento do manejo racional, que utiliza técnicas mais gentis de criação e condução dos animais, levando em consideração os comportamentos naturais dos bovinos e uma condução mais tranquila, torna-se necessário realizar estudo mais preciso sobre a influência dos tipos de manejo na fisiologia e bem-estar dos animais antes, durante e após o transporte para tentar determinar qual seria o melhor método de manejo, por meio de comparações feitas entre a forma tradicionalmente utilizada e formas nas quais os animais são previamente treinados e adaptados a certos procedimentos.

Ainda, no Brasil, por ser um país de enorme extensão, animais de corte são comumente transportados por longas distâncias, com a perspectiva de obtenção de melhores preços de venda em locais distantes daquele de criação. Porém, as condições em que isso é realizado podem ser extremamente danosas à fisiologia do animal, pelo estresse gerado durante o transporte com intensas mudanças fisiológicas em detrimento da condição corporal dos animais. Dessa forma, o estudo busca identificar se é realmente rentável transportar os animais por distâncias tão longas, submetendo-os a mais de 24 horas de viagem em busca de melhores lucros pelo produto, ou se outras estratégias em prol da qualidade de vida dos animais deverão ser avaliadas.

## **1.2 Objetivos**

### **Objetivo geral**

Avaliar as condições de bem-estar dos bovinos submetidos a diferentes tipos de manejo pré-embarque em diferentes tempos de transporte.

### **Objetivos específicos**

Avaliar o perfil hematológico, bioquímico sérico e de cortisol de bovinos submetidos a três formas de manejo pré-embarque.

Estudar o perfil hematológico, bioquímico sérico e de cortisol de bovinos submetidos a três períodos diferentes de transporte.

Observar qual a melhor combinação de manejo pré-abate e tempo de transporte para a raça de bovinos utilizada.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Tendência dos consumidores mundiais em relação ao bem-estar animal

Com os avanços tecnológicos e aumento da conscientização a respeito da senciência animal, as pessoas estão ficando mais exigentes, tanto em relação à forma de tratamento a que os animais de produção são submetidos quanto em relação à qualidade da proteína de origem animal para consumo próprio. No mercado de proteína animal, o consumidor final é o ditador das tendências e, quanto mais informado esse consumidor, mais exigente ele se torna. Logo, especialmente em países europeus, conforme constatado por Broom (2010), a forma de tratamento dada aos animais no sistema produtivo é levada em consideração no momento de escolha do produto a ser consumido.

Problema ainda presente em diversos países, além do preço do produto, é a falta de informação acerca da forma como os animais de produção são criados e o tema bem-estar animal, os quais são assuntos importantes e na maioria dos casos não entendidos pela população em geral (Hotzel & Machado Filho, 2004), com a falta de contato do homem da cidade com o campo, o que gera dados preocupantes: 31% de adultos jovens norte-americanos já visitaram uma fazenda, 8% deles acreditava que o bacon era proveniente do trigo e 50% não relacionava a carne aos bovinos de corte (Grandin, 2014). Dessa forma, a falta de integração cidade-campo vem causando certos conflitos em relação ao produto que é consumido.

No Brasil, o sistema tradicional de produção ainda está enraizado aos que o conhecem e praticam, além disso, grande parte das pessoas urbanas, que não têm contato com o campo, simplesmente desconhecem as formas de criação. Conforme encontrado em estudo realizado por Franchi e colaboradores (2012), na região sudeste do Brasil, a maioria das pessoas

não leva em consideração questões de bem-estar no momento da compra de produtos de origem animal, porém, a maioria também acredita que os animais devam ser tratados com boas condições de vida e que estes possuem sentimentos. Dessa forma, fica claro que o conceito de senciência dos animais domésticos é amplamente aceito, mesmo em países em desenvolvimento (Fraser & Broom, 1990), porém novamente esbarra na falta de informação e integração da vida urbana com a rural.

Apesar da intensa ligação do bem-estar animal com questões acerca de senciência e sentimentos dos animais, a definição vai além dessas premissas. A intensificação tecnológica e aumento expressivo na produtividade tem refletido não só nas questões éticas, mas também sanitárias, de segurança alimentar, como observado nos últimos anos em países europeus com o surgimento de novas doenças e diminuição da resistência em animais muito selecionados geneticamente (Hotzel & Machado Filho, 2004). Por esse motivo, pode ser também que a população desses países esteja mais engajada na luta pela produção sustentável envolvendo o quesito bem-estar, já que questões de saúde animal e humana também estão presentes. Dessa forma, o conhecimento acerca das questões de bem-estar animal precisa ser analisado objetivamente (Marahens et al., 2011), sem considerar apenas a senciência animal ou embasar-se em antropomorfização dos animais, mas considerando parâmetros fisiológicos, sanitários e produtivos.

Países importadores de proteína animal brasileira, especialmente da União Europeia, vêm exigindo adequações às questões do bem-estar animal (Zanella, 2007). Essa exigência, que ocorre inicialmente por parte da sociedade, consumidores e produtores que utilizam a proteína animal como matéria-prima, é de número cada vez maior de ações que melhorem a qualidade de vida dos animais (Hotzel & Pinheiro Machado Filho, 2004). Talvez também por esse nível maior de conhecimento e exigência, a quantidade de carne consumida em países desenvolvidos teve aumento três vezes menor em comparação ao aumento ocorrido em países em desenvolvimento (Delgado, 2003). A tendência atual de consumo de carne pode ser afetada por fatores como o preço e renda de cada indivíduo, alterando o equilíbrio entre oferta e demanda no mercado da carne. Porém, outros fatores como a rastreabilidade, poderão influenciar de forma mais forte a escolha do consumidor. A rastreabilidade entendida pelo consumidor, pode ser vista de diversas formas, incluindo a finalidade de uso do produto até a forma de criação dos animais, levando em consideração as necessidades éticas e morais para aplicação do bem-estar animal e da sustentabilidade (Henchion et al., 2014).

Dessa forma, atualmente já é entendido que o bem-estar animal exerce influência tanto direta quanto indireta na cadeia de produção animal, incluindo a qualidade de vida dos animais, a qualidade dos produtos obtidos e a segurança alimentar (Hernandes et al., 2009).

## **2.2 Formas de manejo e o bem-estar de bovinos**

No Brasil, o sistema produtivo de bovinos de corte é geralmente extensivo a pasto, onde os animais têm a liberdade para fazer suas escolhas. De acordo com Grandin (2008), esses indivíduos mantêm pouco contato direto com seres humanos, o que pode proporcionar maior reatividade no momento do agrupamento, transporte e abate. Portanto, por não serem, em geral, acostumados a contato humano desde jovens, esses animais de criação a pasto podem ser mais susceptíveis a situações estressantes, o que pode ser refletido em altos níveis de cortisol e agitação durante procedimentos básicos de manejo (Grandin, 1997).

Além do pouco contato com humanos, esses bovinos de corte podem ainda ser submetidos a formas de manejo agressivas, comumente utilizadas em diversas regiões do Brasil. A tradição e cultura são fatores que muito influenciam a forma de tratar os animais e acabam dificultando a inserção de técnicas possivelmente mais eficientes no sistema, como o manejo racional, que começa gradativamente a ficar conhecido e emprega formas de condução, instalações “anti-estresse” e atitudes pré-abate que podem influenciar diretamente na qualidade de vida dos animais e do produto final, apenas com a aplicação das técnicas de bem-estar nos animais (Grandin, 2003). Para a aplicação desse tipo de manejo deve-se ter conhecimento acerca do comportamento natural dos indivíduos, tendo isso como base, o manejo poderá então ser facilitado, otimizando o trabalho e poupando energia dos animais e do tratador (Grandin, 2008).

Entre os comportamentos naturais dos bovinos, devem ser consideradas a gregriedade dos indivíduos, a questão de liderança e dominância e características de forma de visão, audição e olfato. Levando-se em consideração essas particularidades nos momentos de condução dos indivíduos, o manejo torna-se facilitado para ambas as partes, animais e tratador. Diversos estudos já demonstraram que a atitude dos manejadores influencia diretamente o comportamento dos animais. Animais que são tratados de forma positiva demonstram menos medo do que os manejados aversivamente. Por esse motivo, em momentos de pesagem,

embarque e realização de manejos que deveriam ser simples, observa-se grandes diferenças de comportamento dos animais comumente manejados de maneira gentil ou aversiva, sendo que esses últimos costumam demonstrar mais medo e repulsa (Lensink et al., 2001) dificultando a realização dos procedimentos. O treinamento desses animais criados extensivamente, com movimentos calmos do manejador e ensinando-os a segui-lo apenas por comando de voz pode influenciar a resposta desses indivíduos a eventos futuros, como embarque para transporte (Grandin, 1997). Nos países mais desenvolvidos, com preocupações mais antigas em relação à forma de criação dos animais, como os EUA, o manejo do gado já foi melhorado, conforme apresentado por Woiwode e Grandin (2014), que observaram que durante a contenção de bovinos em brete para vacinação a porcentagem de animais que caíram foi inferior a 1%, vocalização 1,3% e utilização de bastão elétrico em 5,5% dos indivíduos. No momento de embarque e desembarque dos animais do caminhão de transporte, diversos instrumentos são usados para auxiliar no processo, entre eles, tubos de metal, pás, chicotes e bastão elétrico, sendo que esse último deveria ser usado em menos de 25% dos animais (Nicholson et al., 2013), já que este pode causar dor e estresse extremo nos indivíduos (Broom, 2003) em um momento delicado da vida do animal, o pré-abate.

Fatores comprovadamente estressantes como forma de embarque e condução no caminhão de transporte, falta de descanso pós-viagem ou insensibilização não efetiva afetam a qualidade do produto (Swanson & Morrow-Tesch, 2001). Alguns outros fatores como a utilização de currais anti-estresse, o manejo racional desde o nascimento até a fase de terminação do animal e horário a que o animal é submetido ao transporte são procedimentos que podem amenizar o estresse causado pelos fatores descritos acima, podendo ter influência no bem-estar e conseqüentemente na qualidade do produto final, a carne (Grandin, 2008). Bovinos criados em condições de manejo gentil apresentaram menores níveis de reatividade do que bovinos criados de forma aversiva quando pessoas se aproximaram e os tocaram. Ainda, esses animais de tratamento gentil precisaram de menos esforço para embarcarem em caminhão de transporte, além de ocorrerem menor número de acidentes durante o tempo de descanso em abatedouro. Esses níveis maiores de calma e menores de evitação poderiam ser interpretados como medo reduzido em relação aos animais que tiveram experiências prévias de manejo ruins (Lensink et al., 2001).

Outro fator que influencia a resposta a manejos é o temperamento dos bovinos que, apesar de ser característica individual, pode ser muito alterado pela forma como os indivíduos são tratados ou manejados, aversivamente ou gentilmente (Silveira et al., 2006).

Estudos indicam que bovinos com temperamento mais excitável têm maior suscetibilidade aos agentes estressores pré-abate do que os de temperamento mais calmo (Petherick et al., 2009). Isso pode ser um fator a ser considerado no momento de escolha do tipo de manejo a ser adotado, já que animais que têm maior frequência de contato com humanos tendem a ter menor excitação após treinamento de procedimentos de rotina. Ainda relacionado à forma de tratamento e excitabilidade, já foi observado que animais que saem calmamente dos bretes de contenção, ou seja, animais mais calmos, ganham mais peso do que aqueles que saem mais rapidamente, mais agitados (Burrow, 1997), demonstrando a influência direta do temperamento e forma de manejo na fisiologia e produtividade dos animais (Logue & Mayne, 2014). Dessa forma, a reação dos animais é definida por uma complexa interação entre fatores genéticos de temperamento e experiências prévias. Logo, tratamentos aversivos devem ser evitados em momentos de realização de procedimentos rotineiros durante a criação, especialmente nos primeiros contatos, já que o fator experiências prévias também é influente em comportamentos posteriores (Grandin, 1997). Por essas razões, com o objetivo de evitar a intensificação das alterações fisiológicas que ocorrem durante o manejo de embarque, transporte e desembarque dos animais, é importante controlar essas fases, aplicando-se tratamentos adequados – menos agressivos – e tempos de viagem menos danosos (Broom, 2003).

Ainda, além da influência no ganho de peso, o manejo inadequado pode ser responsável por perdas visíveis de carcaça, o que inclui lesões, contusões, hematomas (Grandin, 2008). Durante o processo de condução e retirada dos animais do caminhão o manejo realizado incorretamente pode causar danos irreversíveis e perdas econômicas intensas. Uma área ainda de muita importância que precisa ser melhorada é a atitude dos motoristas de caminhões de transporte de carga viva. Estudo recente realizado nos EUA mostrou o excesso de utilização de bastão elétrico pelos motoristas (Nicholson et al., 2013). Já estudos na América do Sul mostraram que o treinamento dos motoristas reduz a incidência de contusões (Paranhos da Costa et al., 2014).

Dessa maneira, práticas de manejo grosseiras são um dos principais problemas de bem-estar e a utilização de formas de manejo menos aversivas pode ser entendida como um diferencial para melhorar a produtividade de bovinos de corte (Grandin, 2014). A magnitude geral do problema para certo indivíduo pode ser “mensurada” pela condição a que o animal está submetido e a cronicidade da mesma, ou seja, sua duração. Piores níveis de bem-estar referem-se a processos aversivos mais duradouros e contínuos (Broom & Johnson, 1993). Portanto, o pior quadro seria a presença de profundos problemas por longo tempo.

### 2.3 Transporte de carga-viva e bem-estar animal

O transporte rodoviário de carga viva é atividade comum e necessária (Swanson & Morrow-Tesch, 2001; Browning & Leite-Browning, 2013), causadora de estresse e de diminuição nas condições de bem-estar dos animais, mesmo quando realizado em suas condições mais favoráveis (Grandin, 2000). Por se tratar de evento multifatorial, que envolve o embarque, percurso, desembarque, chegada a um local estranho, é aceitável que esse evento seja responsável de diversas mudanças fisiológicas e diminuição no grau de bem-estar dos indivíduos (Broom, 2003; Blokhuis et al., 2008). Além disso, o nível de estresse dos animais submetidos a transporte depende de inúmeros fatores, entre eles, a idade, raça, temperamento, experiências prévias de manejo e transporte, condições da estrada, capacidade do motorista, densidade do caminhão, condições climáticas, duração da viagem, chegada a um novo local e mistura de lotes (Schwartzkopf-Genswein et al. 2007; Nielsen et al., 2011; Odore et al., 2011; Stockman et al., 2011). Essas condições de transporte têm o potencial para alterar respostas fisiológicas devido ao estresse físico e psicológico, entre elas alterações hematológicas, com possível aumento de neutrófilos e diminuição de linfócitos (Earley et al., 2012), além de afetar variáveis biológicas como a albumina, proteína e glicose, sendo que as duas primeiras são indicadores de desidratação decorrente do transporte (Earley et al., 2013; Earley & O’Riordan, 2006).

Além das alterações supracitadas, a redução do peso corporal é um achado consistente em trabalhos de transporte de bovinos, chegando a perdas superiores a 11% do total de peso vivo (Earley et al., 2006). Essa perda é especialmente atribuída à eliminação de fluídos intestinais, desidratação e tentativas de equilibrar a temperatura corporal (Arthington et al., 2003). Para tentar minimizar os efeitos negativos da viagem dos bovinos de corte, é importante prepará-los previamente com fornecimento de energia e hidratando-os, bem como com o fornecimento de alimentos em intervalos durante a jornada, para tentar manter a homeostase, a expressão normal de comportamento e evitar perdas de partes da carcaça por situações estressantes, uma vez que o efeito do transporte sobre o glicogênio e sobre o pH muscular estará na dependência da condição corporal do gado que por sua vez dependerá do manejo nutricional (Ferguson & Warner, 2008).

Outro fator importante é a densidade de animais dentro do caminhão, a qual é tipicamente expressa em quilogramas de peso-vivo por metro quadrado ou metro quadrado por

animal e refere-se à quantidade de espaço disponível a cada animal no compartimento. Essa densidade pode ser variável, de alta a baixa, sendo ambas problemáticas. Altas densidades são de 600 kg/m<sup>2</sup> (Tarrant et al., 1989), porém, já vem sendo considerado inadmissível densidade acima de 550 kg/m<sup>2</sup> devido à frequência de contusões e aumento do estresse dos animais (Tarrant et al., 1992). Já o transporte de gado de corte em espaços menores que o mínimo recomendado, que seria de 200 kg/m<sup>2</sup>, pode ocasionar lesões e aumentar as chances de os animais caírem durante o transporte (Nicholson et al., 2013).

Ainda, é importante considerar a habituação dos animais aos procedimentos de transporte, pois já foi observado que animais que foram acostumados ao evento apresentaram baixo aumento da taxa cardíaca quando comparados aos momentos em que estavam em pastejo, demonstrando que as primeiras vezes que eles foram transportados o estresse foi maior do que após a habituação (Pettiford et al., 2008). Ou seja, animais anteriormente manejados gentilmente tendem a ser mais calmos e habituados a procedimentos de transporte (Grandin, 1997). Portanto, tanto o transporte apropriado quanto o recebimento dos animais, desembarque e processo de contenção são vitais para o bem-estar dos animais e causam um enorme impacto nos produtos finais, demonstrando que deve haver melhora nessas condições de manejo (Garcia et al., 2008).

Outro fator de extrema importância e de grande impacto no bem-estar e na qualidade da carne é o descanso pós viagem, o qual deve ser proporcionado com água, alimento e espaço para deitar, podendo reduzir os efeitos negativos da fadiga do transporte no produto final, além de facilitar a evisceração (Cockram et al., 1997). Contudo, ainda não existem estudos claros sobre o tempo exato de descanso após cada tempo de viagem, deixando o processo em aberto e ainda havendo discrepâncias a esse respeito (Earley et al., 2013). Teke e colaboradores (2014) encontraram que após 30 horas de transporte com descanso de 24 e 48 horas ainda houve ocorrência de carne DFD (seca, firme e escura), devido à exaustão de glicogênio muscular durante a viagem e à impossibilidade de recuperação no tempo de descanso. Isso demonstra que os tempos fornecidos para possível recuperação não foram suficientes para o retorno a parâmetros fisiológicos basais, alterados pelo efeito do estresse da viagem. Outro estudo apresenta resultados referentes à imprecisão do tempo para recuperação do peso perdido com o transporte, sendo que 24 horas de descanso após 18 horas de transporte não foram suficientes para atingir o peso anterior ao procedimento (Earley et al., 2013). No Brasil, o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) indica a proibição

do abate de animal que não tenha permanecido no mínimo 24 horas em descanso no local de matança após o transporte.

#### **2.4 A raça de bovinos utilizada**

Atualmente, cerca de 80% do rebanho bovino brasileiro possui genes zebuínos (Bonin et al., 2014), predominantemente os da raça Nelore. Os animais dessa raça são adaptados às condições tropicais do nosso país, contudo, apresentam temperamento heterogêneo, podendo mostrar-se agitado de forma individual, sendo que é comum a reação agressiva perante situações ou desafios novos (Boissy & Bouissou, 1995). Estratégias como o cruzamento comercial com raças europeias têm sido utilizadas para, além de tornar o processo mais eficiente, tentar amenizar o temperamento dos animais utilizados no sistema de produção (Silveira et al., 2006). A expressão do temperamento do gado Nelore está relacionada ao sistema utilizado para sua criação, ou seja, o contato com humanos que estes animais experimentaram durante o processo de criação e a qualidade desse tipo de manejo. Em sistemas de criação extensivos, nos quais os animais ficam soltos durante a maior parte do tempo, sem muito contato com humanos, manejos simples como pesagem, vacinação, tornam-se eventos causadores de intenso estresse, tanto nos animais quanto nos manejadores (Silveira et al., 2006). Ainda, a disposição do curral, temperatura ambiente, tipo de tratador e tratamento, processo de embarque e desembarque, inserção de animais de diferentes procedências no grupo, tranquilidade do manejo, entre outros, são fatores que influenciam a resposta dos animais. Sendo assim, o temperamento dos indivíduos está diretamente ligado à forma de produção e tratamento (Figueiredo et al., 2005).

O Nelore, sendo um animal mais temperamental do que outros em situações estressantes, apresenta mudanças fisiológicas mais acentuadas, com elevado gasto energético e mudanças no pH que podem ocasionar alterações na qualidade da carne. É sabido que a resposta ao estresse é um processo que leva à mobilização da energia para funcionamento do cérebro e dos músculos (Silveira et al., 2006). Pela complexidade da transformação do músculo em carne, bem como da resposta fisiológica ao estresse, diversas alterações podem ocorrer no produto final, desde a formação de carne pálida, mole e exsudativa (PSE) até da carne dura, seca e escura (DFD) (Roça, 2001).

Sendo assim, tanto do ponto de vista do bem-estar animal quanto do ponto de vista econômico, é preciso aperfeiçoar as formas de manejo e transporte dos animais para minimizar todos os tipos de danos (Van de Water et al., 2003). Especialmente com animais mais temperamentais, como os bovinos da raça Nelore, deve-se observar cuidadosamente a forma de manejo e transporte, para que estes não sejam prejudiciais ao bem-estar dos animais e à qualidade do produto final.

## **2.5 Indicadores fisiológicos do bem-estar animal**

Mensurações fisiológicas com presença de alterações em alguns fatores podem ser indicativos das condições de vida a que os animais estão sendo submetidos e, conseqüentemente, suas condições de bem-estar (Broom & Molento, 2004). Fatores que causam o aumento de frequência cardíaca e em atividade adrenal com liberação hormonal e diminuição de respostas imunológicas podem ser ocasionados por precárias condições de bem-estar animal.

Dados endocrinológicos dos animais em sistemas de produção podem auxiliar no entendimento de desempenho reprodutivo ou zootécnico, assim como atitudes comportamentais adotadas pelos animais (Strier & Ziegler, 2005). Entretanto, a análise desses dados deve sempre vir acompanhada de outros indicadores, como os comportamentais. Por se tratar de análises que são influenciadas por diversos fatores, as mensurações de concentrações de cortisol, seja na urina, sangue ou fezes podem ser diferentes em uma mesma espécie animal ou ainda apresentar diferenças entre indivíduos da mesma espécie sob as mesmas condições (Paramastri et al, 2007). Podem ainda não ser observadas correlações positivas entre as concentrações desses hormônios sanguíneos e fecais e isto pode estar relacionado ao tempo entre as coletas das amostras, aos fatores ambientais, hora do dia ou até mesmo ser inerentes a cada animal (Cabezas et al., 2007). A secreção desse glicocorticóide também pode estar relacionada ao tempo e peso corporal do animal (Phil & Hau, 2003), sexo, idade e condição reprodutiva (Strier & Ziegler, 2005).

A determinação fecal de glicocorticóides e outros hormônios, por ser um método não invasivo, pode ser muito útil para uma avaliação da condição de bem-estar, do comportamento, da condição fisiológica ou patológica dos animais. Estes estudos podem ser

realizados em espécies domésticas criadas livremente ou em confinamento, bem como em animais selvagens livres na natureza ou em cativeiro (Dehnhard et al., 2003; Huber et al., 2003; Morato et al., 2004). O cortisol pode ser um indicador de estresse útil no caso de eventos intensos e rápidos, como a entrada em caminhão de transporte. Porém, os níveis de cortisol são muito variáveis tanto entre indivíduos quanto entre raças, o que dificulta a comparação entre estudos. Enquanto certos níveis indicam uma situação extrema em certos indivíduos, pode indicar o nível basal em outros (Grandin, 1997).

Em animais de produção, a forma de manejo e tratamento pode influenciar diretamente os parâmetros fisiológicos. Manejo com utilização de gritos, ferrões, bastões de choque elétrico e contato manual intenso podem ser responsáveis por bruscas mudanças fisiológicas nos bovinos, como modificação nas taxas de adrenalina, cortisol, parâmetros sanguíneos. Essas mudanças podem estar diretamente relacionadas a menores índices de desempenho zootécnico e produtividade final. Muitas pesquisas têm demonstrado ligação direta entre essas formas de tratamento e a piora nas condições de saúde dos indivíduos (Stanger et al., 2005), bem como a correlação negativa entre o tratamento rústico e o ganho de peso (Hotzel & Machado Filho, 2004). Lensink e colaboradores (2001) encontraram altos níveis de glicogênio muscular ao abate em bovinos que receberam tratamento gentil quando comparados a animais que foram tratados de forma grosseira. Esse fato pode indicar um gasto maior de energia pelos indivíduos tratados de forma rústica, devido a reações de medo antes do abate.

Ainda, constituintes de células sanguíneas são indicadores sensíveis de respostas fisiológicas ou patológicas de bovinos ao estresse. Earley e colaboradores (2013) obtiveram achados de neutrofilia e linfopenia, típico leucograma de estresse em bovinos submetidos a transporte. Porém, em contradição a outros estudos, tanto a concentração de hemoglobina quanto o número de eritrócitos ficaram dentro dos limites de normalidade, quando em animais submetidos ao estresse do transporte esses valores deveriam ser aumentados, inclusive em consequência da desidratação. Dessa forma, diversos parâmetros podem ser utilizados como indicadores de estresse e bem-estar, desde glicocorticóides até parâmetros hematológicos.

## 2.6 Parâmetros hematológicos de bovinos

A avaliação de parâmetros hematológicos é uma importante ferramenta para avaliar as condições de vida do animal, podendo ainda ser uma extensão ou detalhamento de aspectos porventura encontrados em exame físico. Para melhor determinação de resultados, é importante considerar o volume do material a ser coletado, por isso, em ruminantes, a coleta do sangue deve ser realizada preferencialmente na veia coccígea ventral ou jugular (Polizopoulou, 2010). Ainda, o sangue é composto por uma parte líquida e outra celular e, dependendo das análises a serem realizadas, é preciso obter o soro ou o plasma sanguíneo. O plasma é a parte líquida obtida após centrifugação quando o sangue é coletado com anticoagulante e contém o fibrinogênio. Já o soro é obtido sem anticoagulante, o fibrinogênio coagula e restam no soro os mais variados solutos orgânicos, como minerais, enzimas, hormônios, entre outros. Portanto, o soro é constituído do plasma sem o fibrinogênio. A parte celular é composta pelos eritrócitos, leucócitos e plaquetas (Lopes et al., 2007).

A principal função do sangue é o transporte, quer de substâncias essenciais para a vida das células do corpo, tais como oxigênio, dióxido de carbono, nutrientes e hormônios, quer de produtos oriundos do metabolismo, indesejáveis ao organismo, os quais são levados aos órgãos de excreção (Kaneko, 1997).

O hemograma está dividido em eritrograma, leucograma, e plaquetograma. No eritrograma é feita a contagem e avaliação morfológica dos eritrócitos, hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). Os eritrócitos, ou células vermelhas, são produzidos na medula óssea em resposta à eritropoietina produzida primariamente pelos rins. Essas células vermelhas são responsáveis por trocas gasosas, carreamento de oxigênio e dióxido de carbono (Jain, 1993). A hemoglobina é uma proteína conjugada formada de 96% de proteínas (globinas) e por um grupo de coloração avermelhada chamado heme (4%), o qual é formado por ferro e grupamentos porfirínicos (Lopes et al., 2007).

Os índices eritrocitários de volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) são relacionados à análise da construção e perda de eritrócitos, ou seja, da eritropoiese ou possíveis hemólise ou anemia. Já a hemoglobina avalia a capacidade de carreamento de oxigênio pelas hemácias, estando intimamente relacionada ao

CHCM, o qual indica a porcentagem de volume da célula vermelha ocupada por hemoglobina (Jones e Allison, 2007).

O volume globular, ou hematócrito, indica a proporção de sangue que é ocupada por hemácias, sendo um exame útil na avaliação do estado geral do animal, especialmente quando associado a contagem de eritrócitos, o que permite encontrar as causas de uma possível anemia, facilitando a conduta terapêutica (Polizopoulou, 2010).

O leucograma inclui a avaliação das células brancas, os leucócitos, os quais são divididos em neutrófilos, linfócitos, basófilos, eosinófilos, monócitos. Cada tipo dessas células de proteção do organismo tem suas funções e são afetadas por diversos fatores, entre eles, o estresse. A função primária dos neutrófilos é a fagocitose de micro-organismos, sendo que seu papel na manutenção da saúde ocorre em uma sequência de eventos que geralmente ocorrem após uma infecção local, que envolvem o aumento da permeabilidade vascular com subsequente acúmulo dos neutrófilos (Jain, 1993). Assim, essas células brancas controlam a infecção, pela promoção da fagocitose com morte dos agentes invasores.

Já os eosinófilos participam especialmente da regulação alérgica e resposta aguda inflamatória, sendo que sua atividade é complexa, relacionada à liberação de histamina e degranulação de mastócitos nos tecidos afetados. Os basófilos são células mais raras, portanto, pouco estudadas. Os monócitos, por sua vez, são células sanguíneas que geram os macrófagos ao adentrar os tecidos, tendo como funções a fagocítica, de remoção de restos celulares, regulação de inflamação, reparo tecidual, entre outras (Jain, 1993).

Os linfócitos são a base do desencadeamento e realização das respostas imunes, representando um grupo heterogêneo de células tanto pelo aspecto morfológico quanto funcional. Essas células em regra possuem receptores de membrana para reconhecimento de antígenos, ou seja, corpos estranhos. Existe ainda uma população de linfócitos que não expressam receptores de antígenos em suas membranas, tendo a habilidade de lisar certas linhagens de células tumorais sem prévia sensibilização (Kaneko, 1997). Os linfócitos são funcionais quanto às imunidades humoral e celular, atividade citotóxica, vigilância imune, entre outras.

A contagem total de leucócitos varia com a espécie animal e também é influenciada pela idade, sendo mais alta ao nascimento e decaindo até estabilizar na idade adulta. A comparação com os valores de referência para a espécie fornece informações sobre casos de leucocitose (aumento do número de leucócitos acima do parâmetro) e leucopenia (diminuição). A leucocitose, além de ser mais comum que a leucopenia, pode ser fisiológica,

por resposta à liberação excessiva de adrenalina, ou corticosteroides, ou seja, em situação de estresse. Nessas situações geralmente a leucocitose é causada por neutrofilia, linfopenia e eosinopenia, típico leucograma de estresse (Jain, 1993).

A contagem de plaquetas, outro tipo de análise realizada dentro do hemograma, avalia a quantidade de células plaquetárias, as quais têm como função principal realizar a manutenção da hemostasia pela integridade vascular, por meio de eventos como a adesão, agregação e liberação plaquetária (Kaneko, 1997). Valores de contagem de plaquetas acima da referência para a espécie designam a trombocitose, e valores abaixo, a trombocitopenia, sendo essa última a anormalidade mais comum, podendo ser causada por diversos fatores, entre eles a esplenomegalia, hepatomegalia, perda massiva de sangue ou estágios crônicos de doenças infecciosas. Já a trombocitose pode ser ocasionada por deficiência de ferro, neoplasias, desordens no trato digestivo, entre outros fatores (Jain, 1993).

## **2.7 Parâmetros bioquímicos de bovinos**

A avaliação do perfil bioquímico sérico é uma ferramenta de extrema relevância na avaliação de estresse e bem-estar dos animais de produção submetidos às atividades de manejo pré-embarque e transporte. O ideal para uma avaliação mais consolidada seria um intervalo de referência específico para bovinos Nelore, o que ainda pode ser difícil de ser encontrado na literatura. De qualquer forma, é possível obter boas comparações e resultados com os estudos já realizados em outros animais em diversas situações ou até mesmo dentro do próprio grupo de estudo em momentos distintos.

É comum a observação de alterações em níveis de glicose, creatina-quinase, proteínas plasmática e total quando bovinos são submetidos a transporte rodoviário (Swanson & Morrow-Tesch, 2001), mostrando a sensibilidade desses parâmetros a esse tipo de evento estressante e desgastante.

## 2.8 Estresse e qualidade de carne

As funções vitais do músculo esquelético continuam a ocorrer após a morte do animal, provocando inúmeras transformações bioquímicas que acabam por transformar músculo em carne. Essas mudanças bioquímicas e estruturais do produto são dependentes dos momentos pré-abate, sendo diretamente relacionadas ao manejo de embarque e desembarque, bem como ao transporte dos animais para o abatedouro e o estresse causado durante esses procedimentos (Grandin, 2000; Tarrant et al., 1992).

O glicogênio presente no corpo dos bovinos apresenta cerca de dois terços de sua quantidade nos músculos esqueléticos. Pelo fato desse glicogênio ser utilizado como fonte de energia para sustentar a contração muscular quando a oferta de glicose não é suficiente, os eventos que afetam a musculatura previamente ao abate dos animais são de extremo impacto na qualidade final da carne (Roça, 2001). O processo de quebra de glicogênio e de glicose com objetivo de fornecimento de energia gera a liberação de íons  $H^+$ , os quais são responsáveis pelas mudanças no pH do músculo ou, após abate do indivíduo, da carne.

Dessa forma, o pH é uma das características mais importantes referente à qualidade de carnes. Seu efeito está diretamente ligado à capacidade de retenção de água, à estrutura das carnes e à cor da mesma. As características sensoriais da carne cozida dependem de alguma forma de sua capacidade de retenção de água. Quando os tecidos têm pouca capacidade de retenção de água, a perda de umidade e de peso durante seu armazenamento é grande, influenciando diretamente na qualidade da carne (Roça, 2001). Assim, o cuidado com o manejo pré-abate é de extrema importância para a obtenção de carne de qualidade sob diversos fatores, entre eles nutricional, visual e de paladar.

Portanto, quando os bovinos são submetidos a eventos estressantes nos momentos pré-abate, esgotam-se as reservas de glicogênio muscular, possibilitando a formação de uma carne dura, seca e escura (DFD) pela impossibilidade de diminuição correta do pH após o abate (Grigor et al., 1999), ficando este acima de 6,0, quando o ideal para exportação é  $pH < 5,8$  (Roça, 2001).

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARTHINGTON, J.D.; EICHER, S.D.; KUNKLE, W.E.; MARTIN, F.G. Effect of transportation and commingling on the acute-phase protein response, growth, and feed intake of newly weaned beef calves. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 1120– 1125, 2003.

BLOKHUIS, H.J.; KEELING, L.J.; GAVINELLI, A.; SERRATOSA, J. Animal welfare's impact on the food chain. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, 2008.

BOISSY, A.; BOUISSOU, M. F. Assessment of individual differences in behaviour reactions of heifers exposed to various fear-eliciting situations. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 46, p. 17-31, 1995.

BONIN, M.N.; FERRAZ, J.B.S.; ELER, J.P.; SILVA, S.L.; REZENDE, F.M.; CUCCO, D.C.; CARVALHO, M.E.; SILVA, R.C.G.; OLIVEIRA, E.C.M. Características de carcaça e qualidade de carne em linhagens da raça Nelore. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.10, p.1860-1866, 2014.

BRASIL, REGULAMENTO DE INSPEÇÃO INDUSTRIAL E SANITÁRIA DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL – RIISPOA. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/Aniamal/MercadoInterno/Requisitos/RegulamentoInspecaoIndustrial.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/MercadoInterno/Requisitos/RegulamentoInspecaoIndustrial.pdf)>. Acesso em 10/04/2015.

BROOM, D.M.; JOHNSON, K.G. **Stress and Animal Welfare**. Ed. Chapman & Hall, 1993, 211p.

BROOM, D.M. Causes of poor welfare in large animals during transport. **Veterinary Research Communications**, v.1, n.27, p. 515 – 518, 2003.

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

BROOM, D. M. Animal welfare: an aspect of care, sustainability, and food quality required by the public. **Journal of Veterinary Medical Education**, v. 37, n 1, p. 83- 88, 2010.

BURROW, H.M. Measurements of temperament and their relationships with performance traits of beef cattle. **Animal Breeding Abstracts**, v. 65, p. 477–495, 1997.

BROWNING, R.JR.; LEITE-BROWNING, M.L. Comparative stress responses to short transport and related events in Hereford and Brahman steers. **Journal of Animal Science**, v.91, p. 957–969, 2013.

CABEZAS, S.; BLAS, J.; MARCHANT, T.A.; MORENO, S. Physiological stress levels predict survival probabilities in wild rabbits. **Hormones and Behavior**, v. 51, p. 313–320, 2007.

COCKRAM, M.S.; KENT, J.E.; JACKSON, R.E.; GODDARD, P.J.; DOHERTY, O.M.; MCGILP, I.M.; FOX, A.; STUDDERT-KENNEDY, T.C.; MCCONNELL, T.I.; O'RIORDAN, T. Effect of lairage during 24 h of transport on the behavioural and physiological responses of sheep. **Animal Science**, v. 65, p. 391–402, 1997.

DEHNHARD, M.; SCHREER, A.; KRONE, O.; JEWGENOW, K.; KRAUSE, M.; GROSSMANN, R. Measurement of plasma corticosterone and fecal glucocorticoid metabolites in the chicken (*Gallus domesticus*), the great cormorant (*Phalacrocorax carbo*), and the goshawk (*Accipiter gentilis*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 131, p. 345–352, 2003.

DELGADO, C.L. Rising consumption of meat and milk in developing countries has created a new food revolution. **The Journal of Nutrition**, p. 3907–3910, 2003.

EARLEY, B.; DRENNAN, M.; O’RIORDAN, E.G. The effect of road transport in comparison to a novel environment on the physiological, metabolic and behavioural responses of bulls. **Research in Veterinary Science**, v. 95, p. 811–818, 2013.

EARLEY, B.; FISHER, A.D.; O’RIORDAN, E.G. Effects of pre-transport fasting on the physiological responses of young cattle to 8 h road transport. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, v. 45, p. 51–60, 2006.

EARLEY, B.; O’RIORDAN, E.G. Effects on transporting bulls at different space allowances on physiological, haematological and immunological responses to a 12 h journey by road. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, v. 45, p. 39 – 50, 2006.

EARLEY, B.; MURRAY, M.; PRENDIVILLE, D.J.; PINTADO, B.; BORQUE, C.; CANALI, E. The effect of transport by road and sea on physiology, immunity and behaviour of beef cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 92, p. 531–541, 2012.

FELL, L.R.; COLDITZ, I.G.; WALKER, K.H.; WATSON, D.L. Associations between temperament, performance and immune function in cattle entering a commercial feedlot. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 39, p. 795–802, 1999.

FERGUSON, D.M.; WARNER, R.D. Have we underestimated the impact of pre-slaughter stress on meat quality in ruminants? **Meat Science**, v.80, p. 12-19, 2008.

FIGUEIREDO, L.G.G.; ELER, J.P.; MOURÃO, G.B.; FERRAZ, J.B.S.; BALIEIRO, J.C.C.; MATTOS, E.C. Análise genética do temperamento em uma população da raça Nelore. **Livestock Research for Rural Development**, v. 17, 2005.

FRANCHI, G.A.; NUNES, M.L.A.; GARCIA, P.R.; SILVA, I.J.O. Percepção do mercado consumidor de Piracicaba em relação ao bem-estar dos animais de produção. **Pubvet**, v. 6, n. 11, ed. 198, 15 p., 2012.

FRASER, A.F.; BROOM, D.M. **Farm Animal Behaviour and Welfare**. Ed. Bailliere Tindall. 3a Edição, 1990, 437p.

GARCIA, L.G.; NICHOLSON, K.L.; HOFFMAN, T.W.; LAWRENCE, T.E.; HALE, D.S.; GRIFFIN, D.B.; SAVELL, J.W.; VAN OVERBEKE, D.L.; MORGAN, J.B.; BELK, K.E.; FIELD, T.G.; SCANGA, J.A.; TATUM, J.D.; SMITH, G.C.. National Beef Quality Audit-2005: Survey of targeted cattle and carcass characteristics related to quality, quantity, and value of fed steers and heifers. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 3533–3543, 2008.

GRANDIN, T. Assessment of stress during handling and transport. **Journal of Animal Science**, v.75, p.249-257, 1997.

GRANDIN, T. **Livestock Handling and Transport**. Oxford. 2<sup>a</sup> Ed. CAB International, 2000. 459 p.

GRANDIN, T. Transferring results of behavioral research to industry to improve animal welfare on the farm, ranch and the slaughter plants. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 81, p. 215–228, 2003.

GRANDIN, T., **Humane Livestock Handling: Understanding livestock behavior and building facilities for healthier animals**, Storey Publishing, 2008, 227p.

GRANDIN, T. Animal welfare and society concerns finding the missing link. **Meat Science**, v. 98, p. 461–469, 2014.

GRIGOR, P.N.; GODDARD, P.J.; LITTLEWOOD, C.A.; WARRISS, P.D.; BROWN, S.N. Effects of preslaughter handling on the behaviour, blood biochemistry and carcasses of farmed red deer. **Veterinary Record**, London, v.144, p.223-227, 1999.

GUPTA, S.; EARLEY, B.; CROWE, M.A. Effect of 12-hour road transportation on physiological, immunological and haematological parameters in bulls housed at different space allowances. **The Veterinary Journal**, v.173, p. 605–616, 2007.

HENCHION, M.; CARTHY, M.M.; RESCONI, V.C.; TROY, D. Meat consumption: Trends and quality matters. **Meat Science**, v. 98, p. 561–568, 2014.

HERNANDES, J.F.M.; RUBIN, L.S.; DILL, M.D.; OLIVEIRA, S.M.; SILVA T.N. Bem-estar animal na cadeia produtiva bovina: da propriedade rural ao abate. Campo Grande, 25 a 28 de julho de 2009, **Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural**.

HÖTZEL, M.J.; MACHADO FILHO, L.C. Bem-estar Animal na Agricultura do Século XXI. **Revista de Etologia**, v.6, n.1, p. 03-15, 2004.

HUBER, S.; PALME, R.; ARNOLDA, W. Effects of season, sex, and sample collection on concentrations of fecal cortisol metabolites in red deer (*Cervus elaphus*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 130, p. 48–54, 2003.

ISHIZAKI, H.; KARIYA, Y. Road transportation stress promptly increases bovine peripheral blood absolute NK cell counts and cortisol levels. **Journal of Veterinary Medicine Science**, v.72, p.747-753, 2010.

JAIN, C.N. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.417 p.

JONES, M.L.; ALLISON, R.W. Evaluation of the Ruminant Complete Blood Cell Count. **Veterinary Clinics Food Animal Practice**, v. 23, p. 377–402, 2007.

KANEKO, J.J.; HARVEY, D.W.; BRUSS, W.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5th ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932 p.

LENSINK, B.J.; FERNANDEZ, X.; COZZI, G.; FLORAND, L.; VEISSIER, I. The influence of farmers' behavior on calves' reactions to transport and quality of veal meat. **Journal of Animal Science**, v. 79, p.642-652, 2001.

LOGUE, D.N.; MAYNE, C.S. Welfare-positive management and nutrition for the dairy herd: A European perspective. **The Veterinary Journal**, v. 199, p. 31–38, 2014.

LOPES, S.T.A.; BIONDO, A.W.; SANTOS, A.P. **Manual de patologia clínica veterinária**. 3a ed. Departamento de Clínica de Pequenos Animais, UFSM. 2007. 107p.

MARAHRENS, M.; KLEINSCHMIDT, N.; DI NARDO, A.; VELARDE, A.; FUENTES, C.; TRUAR, A.; OTERO, J.L.; DI FEDE, E.; DALLA VILLA, P. Risk assessment in animal welfare – Especially referring to animal transport. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 102, p. 157– 163, 2011.

MORATO, R.G.; BUENO, M.G.; MALMHEISTER, P.; VERRESCHI, I.T.N., BARNABE, R.C. Changes in the fecal concentrations of cortisol and androgen metabolites in captive male jaguars (*Panthera onca*) in response to stress. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, p. 1903-1907, 2004.

NICHOLSON, J.D.W.; NICHOLSON, K.L.; FRENZEL, L.L.; MADDOCK, R.J.; DELMORE, JR.R.J.; LAWRENCE, T.E.; HENNING, W.R.; PRINGLE, T.D.; JOHNSON, D.D.; PASCHAL, J.C.; GILL, R.J.; CLEERE, J.J.; CARPENTER, B.B.; MACHEN, R.V.; BANTA, J.P.; HALE, D.S.; GRIFFIN, D.B.; SAVELL, J.W. Survey of transportation procedures, management practices, and health assessment related to quality, quantity, and value for market beef and dairy cows and bulls. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 5026–5036, 2013.

NIELSEN, B.L.; DYBKJAER, L.; HERSKIN, M.S. Road transport of farm animals: effects of journey duration on animal welfare. **Animal**, v. 3, p. 415–427, 2011.

ODORE, R.; BADINO, P.; RE, G.; BARBERO, R.; CUNIBERTI, B.; D'ANGELO, A.; GIRARDI, C.; TARANTOLA, M. Effects of housing and short-term transportation on hormone and lymphocyte receptor concentrations in beef cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 90, p. 341–345, 2011.

PARAMASTRI, Y.; ROYO, F.; EBEROVA, J.; CARLSSON, H.E.; SAJUTHI, D.; FERNSTROM, A.E.; PAMUNGKAS, J.; HAU, J. Urinary and fecal immunoglobulin A, cortisol and 11-17 dioxoandrostanes, and serum cortisol in metabolic cage housed female cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). **Journal of Medical Primatology**, v.36, p. 355-364, 2007.

PARANHOS DA COSTA, M.J.R.; HUERTAS, S.M.; STRAPPINI, A.C.; GALLO, C. **Handling and transport of cattle and pigs in South American**. In T. Grandin (Ed.), *Livestock handling and transport* (pp. 174–192) (4th ed.). Wallingford, Oxfordshire, UK: CABI International. 2014.

PETHERICK, J.C.; DOOGAN, V.J.; VENUS, B.K.; HOLROYD, R.G.; OLSSON, P. Quality of handling and holding yard environment, and beef cattle temperament: Consequences for stress and productivity. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 120, p. 28–38, 2009.

PETTIFORD, S.G.; FERGUSON, D.M.; LEA, J.M.; LEE, C.; PAULL, D.R.; REED, M.T. The effect of loading practices and 6 hour road transport on the physiological responses of yearling cattle. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 48, p. 1–6, 2008.

PHIL, L.; HAU, J. Faecal corticosterone and immunoglobulin A in young adult rats. **Laboratory Animal**, v. 37, p. 166–71, 2003.

POLIZOPOULOU, Z.S. Haematological tests in sheep health management. **Small Ruminant Research**, v. 92, p. 88–91, 2010.

ROÇA, R.O. Abate humanitário: manejo ante-mortem. **Revista TeC Carnes**. Campinas, SP, v.3, n.1, p.7-12, 2001.

SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K.S.; BOOTH-MCLEAN, M.E.; SHAH, M.A.; ENTZ, T.; BACH, S.J.; MEARS, G.J.; SCHAEFER, A.L.; COOK, N.; CHURCH, J.; MCALLISTER, T.A. Effects of pre-haul management and transport duration on beef calf performance and welfare. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 108, p. 12–30, 2007.

SILVEIRA, I.D.B.; FISCHER, V.; SOARES, G.J.D. Relação entre o genótipo e o temperamento de novilhos em pastejo e seu efeito na qualidade da carne. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.519-526, 2006.

STANGER, K.J.; KETHEESAN, N.; PARKER, A.J.; COLEMAN, C.J.; LAZZARONI, S.M.; FITZPATRICK, L.A. The effect of transportation on the immune status of *Bos indicus* steers. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 2632–2636, 2005.

STOCKMAN, C.A.; COLLINS, T.; BARNES, A.L.; MILLER, D.; WICKHAM, S.L.; BEATTY, D.T.; BLACHE, D.; FLEMING, P.A. Qualitative behavioural assessment and quantitative physiological measurement of cattle naïve and habituated to road transport. **Animal Production Science**, v. 51, p. 240–249, 2011.

STRIER, K.B.; ZIEGLER, T.E. Advances in Field-Based Studies of Primate Behavioral Endocrinology. **American Journal of Primatology**, v. 67, p. 1–4, 2005.

SWANSON, J.C.; MORROW-TESCH, J. Cattle transport: historical, research and future perspectives. **Journal of Animal Science**, v. 79, p.102–109, 2001.

TARRANT, P.V.; KENNY, F.J.; HARRINGTON, D. The effect of stocking density during 4 hour transport to slaughter on behaviour, blood constituents and carcass bruising in Friesian steers. **Meat Science**, v. 24, p. 209–222, 1989.

TARRANT, P.V.; KENNY, F.J.; HARRINGTON, D.; MURPHY, M. Long distance transportation of steers to slaughter: Effect of stocking density on physiology, behaviour and carcass quality. **Livestock Production Science**, v. 30, p. 223–238, 1992.

TEKE, B.; AKDAG, F.; EKIZ, B.; UGURLU, M. Effects of different lairage times after long distance transportation on carcass and meat quality characteristics of Hungarian Simmental bulls. **Meat Science**, v. 96, p. 224–229, 2014.

VAN DE WATER, G.; VERJANS, F.; GEERS, R. The effect of short distance transport under commercial conditions on the physiology of slaughter calves, pH and colour profiles of veal. **Livestock Production Science**, v. 82, p. 171–179, 2003.

VOISINET, B.D.; GRANDIN, T.; TATUM, J.D.; O'CONNOR, S.F.; STRUTHERS, J.J. Feedlot cattle with calm temperaments have higher average daily gains than cattle with excitable temperaments. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 892–896, 1997.

WOIWODE, R.; GRANDIN, T. **Survey shows feedlots dedicated to calm handling of cattle**, Beef. <[www.beefmagazine.com](http://www.beefmagazine.com)>. 2014. Acesso em 20/05/2015.

ZANELLA, A.J. **Tendências e desafios relacionados ao bem-estar animal**, Concordia, 2007.  
Disponível em:  
<[http://www.cnpsa.embrapa.br/wahumano/palestras/Zanella\\_Tendenciasedesafiosparaobem-estaranimal.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/wahumano/palestras/Zanella_Tendenciasedesafiosparaobem-estaranimal.pdf)> Acesso em 13/05/2015.

## **CAPÍTULO 2**

### **PERFIL HEMATOLÓGICO DE BOVINOS SUBMETIDOS A DIFERENTES TIPOS DE MANEJO PRÉ-EMBARQUE E TEMPOS DE TRANSPORTE**

## RESUMO

Os efeitos de diferentes tipos de manejo pré-embarque e tempos de transporte rodoviário sobre os parâmetros fisiológicos de bovinos foram investigados. Vinte e quatro animais Nelore machos jovens foram submetidos a três tipos de manejo pré-embarque e três tempos de viagem em caminhão truck. Os manejos foram o tradicional (pouco gentil), com treinamento (com comando de voz exclusivamente) e com bandeira (em silêncio, unicamente com o uso de bandeira). Os tempos de transporte foram de 24, 48 e 72 horas com privação de água e alimentos. As viagens causaram desidratação nos animais, especialmente quando o manejo pré-embarque utilizado foi o tradicional. Alterações em células brancas se fizeram muito presentes, também associadas de forma mais acentuada ao manejo tradicional. Transporte com duração de 24 e 48 horas causaram aumento de neutrófilos, seguido por depleção destes durante as viagens de maior duração, o que poderia causar falha do ponto de vista imunitário. Dessa forma, diversas alterações hematológicas que tiraram os animais do seu estado de homeostase foram ocasionadas pelos protocolos de manejo e transporte utilizados durante o tempo de experimentação, o que pode ter um impacto severo na condição sanitária dos indivíduos, principalmente durante o manejo tradicional.

**Palavras-chave:** bem-estar animal, transporte rodoviário, homeostase, alterações fisiológicas.

## ABSTRACT

### HEMATOLOGICAL PROFILE OF CATTLE SUBMITTED TO DIFFERENT TYPES OF PRE-SHIPMENT HANDLING AND TRANSPORT TIMES

The effects of different types of pre-loading handling and road transport times on physiological parameters of cattle were investigated. Twenty-four Nellore young males underwent three types of pre-loading handling and three travel times on truck. Handlings were traditional (unkind handling), with training (with voice command only) and with a flag (in silence, with the use of flag only). Transport times were 24, 48 and 72 hours with food and water deprivation. Transportation caused dehydration in animals, especially when the pre-loading handling used was traditional. Changes in white blood cells were present also associated specially to traditional handling. Transportation lasting 24 and 48 hours caused an increase of neutrophils, followed by its depletion during the longest trips, which could cause failure of the immune point of view. Thus, various haematological disorders that took animals off their state of homeostasis were caused by the handling and transport protocols used during the trial time, which can have several impact on the health status of individuals, particularly during the traditional handling.

**Keywords:** animal welfare, road transportation, homeostasis, physiological changes.

## 1 INTRODUÇÃO

O manejo pré-embarque e o transporte de bovinos criados a pasto são momentos delicados e responsáveis por inúmeras variações fisiológicas nesses animais (Van de Water et al., 2003), já sendo eventos bem estudados, com relatos de alterações em diversos parâmetros hematológicos (Earley et al., 2013). Células sanguíneas participam da manutenção do equilíbrio fisiológico entre as condições do ambiente e a homeostase do animal, sendo que respostas fisiológicas ou patológicas ao estresse são refletidas na composição dessas células (Gupta et al., 2007), tornando-as então um bom parâmetro para análise de situações estressantes. Dessa maneira, inúmeras células sanguíneas são afetadas pelo estresse do transporte, as quais podem ser utilizadas como indicadores de bem-estar (Averós et al., 2008)

Um dos primeiros passos na obtenção de informações a respeito do estado de saúde de um animal com o auxílio de exames laboratoriais é comparar seu hemograma com o de animais sabidamente sadios (George et al., 2010). Ainda, é possível montar uma cronologia de avaliações sanguíneas de um mesmo animal ou de um certo grupo de indivíduos, estabelecendo, dessa forma, um intervalo de referência daquela população específica, já que fatores etários, sexo, raça podem ser diretamente influentes nas variações dos resultados de exames sanguíneos (Costa et al., 2000). Estudo clássico já observou a correlação negativa entre a variação de neutrófilos e o aumento da idade e positiva entre esse último e a variação dos linfócitos de bovinos de diversas raças (Greatorex, 1954), mostrando que a definição de intervalos de referência é fator muito estudado há várias décadas. No Brasil já foi realizada pesquisa de avaliação continuada de leucograma de fêmeas Nelore, sendo observado que a idade realmente tem influência nos valores leucocitários, de forma que à idade de 12 meses foi encontrado o pico leucocitário (Costa et al., 2000). Dessa forma, a avaliação de parâmetros hematológicos pode ser feita não apenas levando-se em consideração os limites de referência

pré-estabelecidos, mas também se considerando uma análise realizada dentro de um grupo de animais de mesma procedência, idade e sexo pode se tornar útil na observação de alterações decorridas a partir de inúmeros fatores, entre eles o estresse no manejo pré-embarque e durante o transporte.

A liberação de glicocorticoides num momento de intenso estresse como o transporte de bovinos, já foi correlacionada à imunossupressão com diminuição dos padrões leucocitários e de defesa do organismo contra patógenos (Dixit et al., 2001). Essa é uma grande preocupação, já que o aumento nos valores de leucócitos causada por neutrofilia, o que tem sido um achado comum em estudos envolvendo estresse em viagens de curta a longa duração, especialmente em casos de animais destinados à exportação (Stanger et al., 2005).

Dessa forma, objetivou-se com esse trabalho verificar, de acordo com a análise dos parâmetros hematológicos de bovinos da raça Nelore, qual seria a melhor forma de manejo durante o procedimento de embarque, bem como avaliar a influência de diferentes tempos de viagem nessas variáveis biológicas.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Local

O experimento foi realizado na Fazenda Mouraria, propriedade particular localizada no Núcleo Rural Santos Dumont, Planaltina, Distrito Federal, Centro-Oeste, Brasil. A fazenda localiza-se nas coordenadas Lat – 15,676638° e Long – 47,584120°, em altitude de 1240 metros, com clima tropical semiúmido. O trabalho foi realizado durante a época de seca na região, nos meses de maio, junho e julho, com temperaturas que não ultrapassaram os 28°C nas horas mais quentes do dia e com mínimas de 13°C ao início do dia.

### 2.2 Animais e instalações

Foram utilizados 24 bovinos machos da raça Nelore, inteiros, com idade entre um ano e um ano e meio. A média do peso vivo durante o tempo total de experimento para cada um dos diferentes tipos de manejo dos animais foi: tradicional: 224,83±16,08; treinamento: 245,33±15,96; bandeira: 257,05±16,15 kg. Os animais vieram do mesmo local de origem na mesma data, com peso médio ao início do experimento de 229,22 ± 5,32 kg.

Durante o período de experimento, exceto durante o transporte, os animais receberam água, feno, concentrado, sal mineralizado em cocho, sendo liberados a pasto durante os períodos de descanso em piquetes com pastagem tipo *Brachiaria decumbens*.

### 2.3 Método de manejo

Os bovinos passaram por três tipos de manejo, sendo inicialmente o tradicional, posteriormente passaram por treinamento com comando de voz e, finalmente, pelo método de movimentação com utilização unicamente de bandeira. Previamente ao início dos estudos, os animais ficaram em curral para habituação durante 72 horas.

O manejo tradicional envolveu os métodos comumente praticados em fazendas de gado de corte para movimentação dos animais, ou seja, utilização de bastão com ponta metálica (ferrão), comandos de voz em tom alto, assobios e movimentação pouco gentil. Tal forma de manejo foi utilizada para movimentar os animais durante a primeira fase do experimento, para embarque dos mesmos no caminhão de transporte.

Para a segunda fase do estudo, os mesmos indivíduos foram previamente treinados a movimentar-se pelo curral, balança e brete, sendo guiados apenas por comando de voz e movimentação do treinador, respeitando a zona de fuga dos animais individualmente e em grupo, estimulando a movimentação do líder para condução do gado, sem utilização de qualquer equipamento de manejo ou contato físico. O treinamento descrito foi realizado todos os dias durante uma semana, no período de 4 horas do turno matutino e previamente à realização da segunda fase de embarque, transporte e desembarque dos indivíduos.

A terceira forma de manejo, com utilização de bandeira, foi feita com o treinamento dos bovinos visando a movimentação por meio de visualização de bandeira agitada de acordo com a necessidade pelo tratador para manter o controle dos animais. O treinamento foi realizado utilizando as mesmas bases do treinamento da fase anterior, incluindo o mesmo tratador, formas e horários de manipulação dos indivíduos. Como os animais já haviam sido previamente ensinados a se mover pelo curral e brete de acordo com comandos de voz do tratador, nessa fase houve a substituição deste pela bandeira, sem precisar utilizar qualquer outra forma de comunicação com os animais. O embarque, transporte e desembarque dos indivíduos foi igualmente realizado nessa fase após uma semana de treinamento com bandeira.

## 2.4 Método de transporte

Em cada fase de manejo previamente citados, os animais foram submetidos a transportes e permanência dentro do caminhão por períodos de tempo de 24, 48 e 72 horas em caminhão tipo truck, sendo percorridas as distâncias aproximadas de 200, 400 e 600 km, respectivamente. Os indivíduos foram embarcados, transportados durante cada período de tempo e finalmente desembarcados. O caminhão percorreu estradas do Distrito Federal e entorno, não podendo extrapolar essas vias por questões de logística. Assim, em diversos momentos, o caminhão manteve-se parado em locais apropriados (postos de gasolina), mas os animais não foram desembarcados, permanecendo no caminhão por todo o tempo definido sem receber água ou alimento. Após as 24 horas de transporte, os bovinos foram desembarcados na fazenda de origem e descansaram por 24 horas, recebendo água, feno e concentrado à vontade. Após 48 horas de viagem o descanso foi de 48 horas, previamente ao embarque para 72 horas de transporte. Após 72 horas de transporte com manejos tradicional e treinamento os animais permaneceram em descanso completo por 1 (uma) semana, entrando em treinamento (com duração de uma semana) para a próxima fase.

Em resumo, a metodologia é apresentada na Figura 2.1 abaixo:

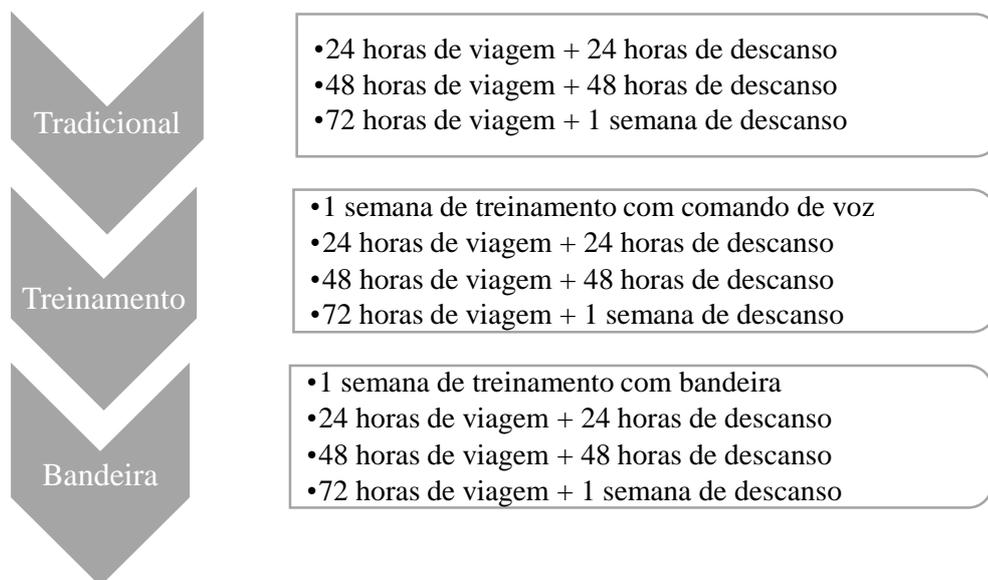


Figura 2.1. Esquema da realização do experimento de campo.

## **2.5 Coleta, processamento e análise das amostras**

Imediatamente antes do embarque e subsequente ao desembarque dos animais em cada uma das três durações de transporte de cada um dos três tipos de manejo, foram coletadas amostras sanguíneas de todos os indivíduos. Amostras de sangue foram coletadas de cada animal com o auxílio de tubos a vácuo (Vacutainer®) da veia coccígea ventral antes do embarque e depois do desembarque em cada um dos tempos de transporte implementados. Uma das amostras, coletada em tubo com EDTA foi utilizada para a realização de hemograma e leucograma. Após a coleta, os tubos foram acondicionados em caixa térmica para posterior análise realizada no Laboratório de Patologia Clínica da Universidade de Brasília, localizado no Hospital Veterinário de Pequenos Animais.

O sangue coletado em tubo com EDTA foi utilizado para as análises de volume globular (VG), contagem de eritrócitos (Eri) e leucócitos - LEU (monócitos - MON, linfócitos - LINF, eosinófilos - EOS, neutrófilos - NEU), hemoglobina (HGB), plaquetas (Plaq). Tais análises foram realizadas em contador automático (ABCVet - ABX®) e a contagem diferencial dos leucócitos foi feita todas as vezes por uma única técnica do laboratório. Foram calculados ainda o volume corpuscular médio (VCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM).

## **2.6 Métodos estatísticos**

A análise dos dados foi feita com utilização do pacote Statistical Analysis System ® (SAS Inc, Cary, NC, USA), avaliando os efeitos dos fatores fixos (manejo, tempo de viagem, embarque, desembarque) sobre os fatores variáveis (hematológicos). A análise estatística incluiu análise de variância, correlação e análise de componentes principais.

## **2.7 Aprovação da Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA)**

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal da Universidade de Brasília (CEUA UnB).

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Hemograma

O volume globular (VG), os eritrócitos (Eri), a hemoglobina (HGB) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) ( $p < 0,001$ ) e as plaquetas (Plaq) ( $p < 0,05$ ) apresentaram interação significativa entre manejo e tempo de viagem (Tabela 2.1).

Tabela 2.1. Probabilidade estatística dos parâmetros hematológicos dos bovinos do estudo.

	Parâmetros					
	VG	Eri	HGB	VCM	CHCM	Plaq
	(%)	( $\times 10^6 \mu\text{L}$ )	(g/dL)	(fL)	(%)	(unid/ $\mu\text{L}$ )
R <sup>2</sup>	0,25	0,21	0,30	0,21	0,23	0,24
CV	13,34	12,45	12,82	7,53	5,52	40,80
Manejo	***	***	***	ns	***	***
Tempo	*	ns	ns	ns	**	*
ManejoXTempo	**	**	**	ns	***	*
EMBDES	**	**	ns	ns	***	ns

VG: volume globular; Eri: eritrócitos, HGB: hemoglobina; VCM: volume corpuscular médio; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; Plaq: plaquetas; R<sup>2</sup>: coeficiente de determinação; CV: coeficiente de variação; EMBDES: embarque e desembarque; ns: não significativo, \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .

O volume globular com valor médio mais elevado foi encontrado dentro do manejo pré-embarque com treinamento em 48 horas de viagem (Tabela 2.2). Os eritrócitos com valores médios mais elevados foram encontrados na combinação do manejo tradicional com 24 e 72 horas de viagem. A hemoglobina, bem como a contagem de plaquetas, mostrou-se aumentada em 24 horas de transporte com utilização de manejo tradicional para embarque. A CHCM apresentou-se diminuída especialmente em 24 horas de transporte com manejo pré-embarque bandeira, conforme apresentado na Tabela 2.2.

Tabela 2.2. Efeito da interação entre manejo e tempo de viagem sobre os parâmetros do hemograma dos bovinos.

<b>Volume Globular – VG (%)</b>				<b>Valores de Referência</b>
Manejo	Tempo			
	24	48	72	
Tradicional	37,43 <sup>A</sup>	36,32 <sup>AB</sup>	36,45 <sup>A</sup>	24 – 46
Treinamento	33,88 <sup>Bb</sup>	37,61 <sup>Aa</sup>	35,71 <sup>Aa</sup>	
Bandeira	34,10 <sup>Ba</sup>	34,19 <sup>Ba</sup>	30,91 <sup>Bb</sup>	
<b>Eritrócitos – ERI (x10<sup>6</sup>µL)</b>				5 – 10
Manejo	Tempo			
	24	48	72	
Tradicional	9,10 <sup>A</sup>	8,92	8,88 <sup>A</sup>	
Treinamento	8,43 <sup>Bb</sup>	9,02 <sup>a</sup>	8,96 <sup>Aab</sup>	
Bandeira	8,54 <sup>Ba</sup>	8,48 <sup>ab</sup>	7,97 <sup>Bb</sup>	
<b>Hemoglobina – HGB (g/dL)</b>				8 – 15
Manejo	Tempo			
	24	48	72	
Tradicional	10,36 <sup>Aa</sup>	9,68 <sup>Bb</sup>	10,07 <sup>Aab</sup>	
Treinamento	9,91 <sup>AB</sup>	10,37 <sup>A</sup>	10,04 <sup>A</sup>	
Bandeira	9,50 <sup>Ba</sup>	9,38 <sup>Bab</sup>	8,80 <sup>Bb</sup>	
<b>Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média - CHCM (%)</b>				30 – 36
Manejo	Tempo			
	24	48	72	
Tradicional	31,18 <sup>Ba</sup>	29,67 <sup>Bb</sup>	30,88 <sup>a</sup>	
Treinamento	32,38 <sup>Aa</sup>	31,19 <sup>Ab</sup>	30,59 <sup>b</sup>	
Bandeira	30,29 <sup>Cb</sup>	31,33 <sup>Aa</sup>	30,20 <sup>b</sup>	
<b>Plaquetas – Plaq (unid)</b>				100000 - 800000
Manejo	Tempo			
	24	48	72	
Tradicional	734180 <sup>Aa</sup>	580150 <sup>Ab</sup>	586330 <sup>Ab</sup>	
Treinamento	540520 <sup>B</sup>	524890 <sup>A</sup>	465620 <sup>B</sup>	
Bandeira	450520 <sup>B</sup>	449510 <sup>B</sup>	473300 <sup>AB</sup>	

Valores de referência segundo Jones e Allison (2007);

Médias na mesma linha com letras minúsculas iguais são equivalentes;

Médias na mesma coluna com letras maiúsculas iguais são equivalentes. (P≤ 0,05).

Os momentos após a viagem, com coleta de material no desembarque dos animais demonstraram valores mais elevados de VG e eritrócitos quando comparados aos momentos de embarque. Já CHCM diminuiu com o transporte, sendo apresentando-se menor ao desembarque, quando comparado ao embarque (Tabela 2.3).

Tabela 2.3. Diferenças entre embarque e desembarque nos parâmetros do hemograma dos bovinos.

	VG (%)	Eri ( $\times 10^6 \mu\text{L}$ )	CHCM (%)
Embarque	34,53 <sup>B</sup>	8,53 <sup>B</sup>	31,15 <sup>A</sup>
Desembarque	35,83 <sup>A</sup>	8,87 <sup>A</sup>	30,56 <sup>B</sup>

VG: volume globular; Eri: eritrócitos; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; médias com letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença estatística. ( $P \leq 0,05$ ).

### 3.2 Leucograma

Foi observada interação entre manejo e tempo de viagem nos dados obtidos de leucócitos (LEU) ( $p < 0,01$ ) e monócitos (MON) ( $p < 0,001$ ), conforme apresentado na Tabela 2.5.

Tabela 2.5. Probabilidade estatística dos parâmetros leucocitários dos bovinos do estudo

	Parâmetros				
	LEU (x10 <sup>3</sup> /μL)	LINF (/μL)	NEU (/μL)	MON (/μL)	EOS (/μL)
R <sup>2</sup>	0,14	0,18	0,14	0,10	0,05
CV	21,52	26,94	65,96	60,65	145,67
Manejo	***	***	***	**	ns
Tempo	ns	ns	**	ns	ns
ManejoXTempo	**	ns	ns	***	ns
EMBDES	ns	ns	ns	ns	ns

LEU: leucócitos; LINF: linfócitos; NEU: neutrófilos; MON: monócitos; EOS: eosinófilos; R<sup>2</sup>: coeficiente de determinação; CV: coeficiente de variação; EMBDES: embarque e desembarque; ns: não significativo, \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001.

A combinação mais prejudicial, indicativa de situação estressante, referente à contagem total de leucócitos e diferencial de monócitos foi 24 horas de viagem com manejo pré-embarque tradicional, já que esse momento causou o aumento acima dos níveis de referência para leucócitos e o menor valor médio de monócitos (Tabela 2.6).

Tabela 2.6. Efeito da interação entre manejo e tempo de viagem nos parâmetros do leucograma dos bovinos.

<b>Leucócitos – LEU (<math>\times 10^3/\mu\text{L}</math>)</b>				<b>Valores de Referência</b>
Manejo	Tempo			
	24	48	72	
Tradicional	14,31 <sup>Aa</sup>	13,05 <sup>ab</sup>	12,85 <sup>b</sup>	4 – 12
Treinamento	11,20 <sup>Bb</sup>	12,82 <sup>a</sup>	11,86 <sup>ab</sup>	
Bandeira	13,06 <sup>A</sup>	12,80	12,13	
<b>Monócitos – MON (<math>/\mu\text{L}</math>)</b>				
Manejo	Tempo			
	24	48	72	
Tradicional	314,27 <sup>Bb</sup>	507,81 <sup>Aa</sup>	440,51 <sup>ab</sup>	25 – 840
Treinamento	502,52 <sup>Aab</sup>	572,70 <sup>Aa</sup>	375,36 <sup>b</sup>	
Bandeira	444,67 <sup>AB</sup>	313,78 <sup>B</sup>	353,36	

Valores de referência segundo Jones e Allison (2007);

Médias na mesma linha com letras minúsculas iguais são equivalentes;

Médias na mesma coluna com letras maiúsculas iguais são equivalentes. ( $P \leq 0,05$ ).

O manejo tradicional e o com treinamento provocaram a obtenção de valores mais baixos de linfócitos. Porém, a associação a uma neutrofilia só se deu com a utilização do manejo tradicional para embarque dos animais. O achado de linfocitose dentro dos manejos foi encontrado isoladamente em pré-embarque com bandeira, conforme apresentado na Tabela 2.7.

Tabela 2.7. Diferenças nos parâmetros do leucograma entre os tipos de manejo aplicados aos bovinos.

Manejo	LINF ( $/\mu\text{L}$ )	NEU ( $/\mu\text{L}$ )
Tradicional	7724,00 <sup>B</sup>	5079,40 <sup>A</sup>
Treinamento	7270,50 <sup>B</sup>	4010,30 <sup>B</sup>
Bandeira	8845,70 <sup>A</sup>	3024,40 <sup>C</sup>

LINF: linfócitos; NEU: neutrófilos; médias com letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença estatística. ( $P \leq 0,05$ ).

A comparação entre tempos de viagem mostrou que 24 e 48 horas de transporte causaram aumento nos valores absolutos de neutrófilos, inclusive com visível neutrofilia (Tabela 2.8).

Tabela 2.8. Diferenças no parâmetro do leucograma entre os tempos de transporte aplicados aos bovinos.

	NEU (/ $\mu$ L)
24 horas	4543,90 <sup>A</sup>
48 horas	4160,20 <sup>AB</sup>
72 horas	3410,00 <sup>B</sup>

NEU: neutrófilos; médias com letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença estatística. ( $P \leq 0,05$ ).

## 4 DISCUSSÃO

A análise do perfil hematológico apresenta-se como verificação de extrema complexidade e importância para avaliar as condições fisiológicas de animais, sendo uma extensão das observações físicas realizadas nos indivíduos (Jones & Allison, 2007). Alterações expressivas podem representar a saída do estado de homeostase por possível estresse e diminuição dos níveis sanitários do animal, pois a saúde constitui uma parte importante do bem-estar (Broom, 2005). Tanto o manejo quanto o tempo de transporte são fatores que podem diretamente influenciar o estado fisiológico dos indivíduos, levando a condições de alterações significativas, podendo impactar na imunidade e na produtividade geral dos animais (Sporer et al., 2008; Van de Water et al., 2003). De acordo com Gupta e colaboradores (2007), alterações ocorridas nos parâmetros sanguíneos são reflexo das respostas fisiológicas ou até patológicas a agentes estressores que tiraram o indivíduo do seu estado de equilíbrio. Dessa forma, o presente estudo demonstrou que o transporte e manejo realizado de forma imprópria causaram modificações fisiológicas consideráveis nos bovinos, corroborando as informações de Grandin (1997), de que tais práticas causam estresse tanto físico quanto psicológico.

As alterações observadas em valores médios de volume globular (VG), eritrócitos (Eri) e hemoglobina (HGB), indicam desidratação dos animais em alguns momentos do estudo. Quando esses parâmetros se apresentam elevados, porém sem extrapolar os limites de referência para bovinos, tendo isso ocorrido majoritariamente durante a aplicação de manejo pré-embarque tradicional associado aos diversos tempos de viagem, pode-se considerar que ocorreram por desidratação, o que seria comum em casos de transporte prolongado com supressão do fornecimento de água. Concomitantemente, na comparação entre valores desses parâmetros na entrada para a viagem e ao final dela, índices mais altos nesse último momento foram encontrados, demonstrando que procedimentos de viagem levam, de fato, a perda de

fluidos corporais e desidratação. Resultados semelhantes de alterações foram encontrados por Bernardini e colaboradores (2012) após período de viagem de 19 horas na qual o transporte provocou o aumento dos indicadores sanguíneos relacionados à desidratação. Earley e colaboradores (2013) também descrevem que o transporte afeta parâmetros hematológicos caracterizando casos de desidratação, e em seu trabalho encontraram que tanto a concentração da HGB quanto a contagem de Eri ficaram dentro dos limites de normalidade, igualmente como ocorreu em nosso estudo, tendo aumentado em alguns casos, mas mantendo-se dentro dos padrões de referência. De fato, o aumento de HGB é relacionado à melhor capacidade de carregamento de oxigênio (Kaneko, 2008), o que seria uma vantagem biológica para os animais que apresentaram o achado no presente estudo, porém, não se pode confirmar que tal fato aconteceu, já que a provável causa da alteração de HGB tenha sido secundária à eliminação de fluidos durante as viagens. Assim, esse aumento na concentração desses parâmetros pode ser explicado pela perda de água no plasma sanguíneo, o que resulta em hemoconcentração (Jain, 1993). Logo, quando há o aumento do volume globular em bovinos é geralmente feita a associação com a desidratação, sendo definido como policitemia relativa, já que a policitemia absoluta é rara nesse tipo de animal (Jones & Allison, 2007).

A desidratação em animais transportados em fase final de produção é fator delicado por ser de extrema relevância na qualidade final da carcaça, tendo influência direta no peso desses indivíduos ao abate. Ainda, estudos indicam que a perda de água ocorrida no transporte não pode ser recuperada durante o tempo de descanso comumente fornecido, já que essa recuperação pode levar de 10 a 36 dias, dependendo da perda total, quando fica acima de 6% do peso vivo (Richardson, 2005). Deve-se também pensar nas altas temperaturas que podem levar à desidratação nesse processo de transporte, o horário em que os animais devem ser submetidos às viagens e tempo para recuperação, já que bovinos podem levar até 14 horas para retornarem à temperatura corporal de equilíbrio após estresse térmico (Dixit et al. 2001). O fato é que a submissão dos animais a viagens, especialmente longas, os expõe a sofrimento por ficarem longos períodos sem receber alimentação e água, além de confinados em pequenos espaços no caminhão o que pode causar exaustão dos mesmos (Van de Water et al., 2003), além de ser um momento de intenso estresse psicológico culminado pelo medo que os animais podem vir a sentir durante os procedimentos de manejo para embarque e transporte (Grandin, 1997).

Outro fator a ser destacado é que os animais do presente experimento retornaram, após viagem, ao mesmo local de origem e não a um lugar novo, como comumente ocorre no sistema produtivo. Essa chegada a um novo ambiente é fator que também poderia requerer

algum tempo para adaptação e, conseqüentemente, aumentar o tempo para recuperação das medidas, já que os indivíduos precisariam de mais tempo para se alimentar e ingerir água. Esse fato já é observado desde estudos antigos que destacam que, entre os momentos principais do transporte está a chegada dos animais ao novo ambiente (Kent & Ewbank, 1983), sendo esse um fator que pode diferenciar os animais comerciais dos que foram submetidos ao nosso experimento. Van de Water e colaboradores (2003) descrevem que, levando em consideração a alta frequência cardíaca encontrada em bovinos testados, esse momento de introdução ao novo ambiente após o transporte é extremamente estressante. Ainda, é importante ressaltar que, mesmo que as formas de manejo causem menores níveis de estresse, as condições das rampas e currais dos locais de embarque e desembarque dos indivíduos, bem como o tipo de caminhão de transporte, têm também influência direta no estresse sofrido pelos animais (Grandin, 1997; Strappini et al., 2009). Assim, os eventos de manejo e transporte não são singulares, na realidade são multifatoriais (Broom, 2003; Blokhuis et al., 2008), envolvendo uma infinidade de aspectos que influenciam direta ou indiretamente a reação fisiológica dos animais (Ljungberg et al., 2007), bem como diversos atores e responsáveis pela qualidade do bem-estar animal durante o processo (Broom, 2005).

Em relação a outro parâmetro hematológico importante, as plaquetas, ao início do experimento, com aplicação de manejo pré-embarque tradicional, a quantidade dessas células apresentou-se aumentada. A ausência de padrão desse achado pode indicar que a alteração não é relevante, podendo ter ocorrido por mobilização esplênica ou pulmonar durante as atividades de manejo pré-embarque, relacionada à resposta ao estresse produzida após a liberação de catecolaminas (Jain, 1993; Lopes et al., 2007). De forma geral, o aumento na quantidade de plaquetas em bovinos é associado a situações de realização de exercícios, estresse ou condições inflamatórias, sendo então formas fisiológicas após liberação de adrenalina (Jones & Allison, 2007). Tal achado é de pouca relevância, considerando-se que os valores do parâmetro não superaram o limite máximo de referência, possivelmente não sendo suficientes para causar distúrbios de hemostasia primária, sendo comuns então em casos de realização de atividade física, como efetuado no presente trabalho.

As alterações na concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e no volume corpuscular médio (VCM) observados em alguns momentos do trabalho podem estar diretamente ligadas às alterações nos valores de VG, Eri e HGB, além do que esses parâmetros são mais utilizados como indicadores de tipos de anemias quando seus valores se encontram fora dos limites de referência, o que não ocorreu no estudo.

A avaliação e acompanhamento das células brancas sanguíneas tem sido utilizado no auxílio de detecção de inflamação, intoxicação e alterações emocionais. Nesse sentido, os dados do leucograma do estudo mostram diversos momentos em que os animais aparentemente foram submetidos a estresse intenso, observados no leucograma típico de estresse apresentado em momento de manejo tradicional com 24 horas de transporte, já que na interação dos dois tratamentos foi apresentada leucocitose mais intensa. Já com a utilização de manejo tradicional ficou presente neutrofilia, bem como nos momentos de 24 horas de viagem, indo ao encontro do que foi encontrado por Earley e colaboradores (2013) em bovinos submetidos a 18 horas de transporte rodoviário, o leucograma de estresse.

No presente estudo, ainda em momento de interação do manejo tradicional com 24 horas de transporte, foi apresentada diminuição nos valores de monócitos, o que também seria uma característica de estresse. Dessa forma, apesar de bovinos serem uma espécie que responde imunologicamente de forma menos acentuada ao estresse (Jain, 1993), foi identificado que, de acordo com os parâmetros supracitados, e considerando-se a combinação de elevados níveis de leucócitos com presença da mais acentuada neutrofilia durante a aplicação do manejo tradicional, pode-se inferir que esse tipo de manejo foi o mais danoso no que se refere ao estresse e baixo grau de bem-estar dos animais.

Ainda, pelos valores médios elevados de neutrófilos pode-se inferir também que as viagens de 48 e especialmente 24 horas foram impactantes, também relacionadas a estresse, sendo que a liberação excessiva dos neutrófilos ocorre pela sinalização da necessidade desses feita pelos glicocorticóides endógenos ou exógenos, no caso do estudo o cortisol, presente em quantidade elevada na corrente sanguínea causando uma mobilização dos neutrófilos marginais da microvasculatura, bem como a indução da liberação aumentada da reserva dessas células da medula óssea (Jain, 1993). Já em relação ao momento de 72 horas de transporte, deve-se levar em consideração que o tempo de meia-vida dos neutrófilos é curto, sendo que esses se mantêm ativos na corrente sanguínea dos bovinos por cerca de 9 horas (Jain, 1993). Dessa maneira, a média de valores mais baixos observada em viagens de 72 horas pode ter ocorrido pela ausência de tempo suficiente para provocar novo episódio de neutrofilia, decorrente de uma possível depleção das reservas desse tipo celular da medula óssea ocasionada pelas viagens anteriores, já que o tempo de produção dos neutrófilos é de 4 a 6 dias em bovinos (Jain, 1993), possivelmente não tendo sido possível então produzir novas quantidades elevadas dessas células durante os tempos de descanso fornecidos no presente estudo.

Dessa forma, essa liberação excessiva de neutrófilos em momento de estresse pode ser mecanismo danoso ao organismo dos bovinos estudados, já que essas células têm como função primária a fagocitose para combate de micro-organismos invasores, logo, sua depleção posterior à intensa liberação pode fragilizar a defesa dos indivíduos (Thrall, 2007), deixando-os susceptíveis a processos infecciosos e inflamatórios. Logo, é fato que o transporte com seus manejos envolvidos causa intensas alterações fisiológicas e imunitárias, porém estudos ainda divergem a respeito das mudanças que ocorrem, já tendo sido relatado presença de linfopenia com diminuição dos neutrófilos (Chacon et al., 2005), bem como neutrofilia acompanhada de linfopenia (Gupta, 2007).

Sobre outro tipo de célula de defesa que apresentou alterações significativas durante a aplicação do manejo com bandeira, os linfócitos, seu aumento acima dos limites de referência para bovinos nesse momento pode ter ocorrido devido a eventos de esplenocontração ocasionada pela liberação excessiva de adrenalina (Jones & Allison, 2007). Ainda, pode ter ocorrido por alterações emocionais ou mesmo excesso de exercícios (Jain, 1993) no momento de estresse do embarque, podendo ser considerada apenas fisiológica, já que a linfocitose patológica é incomum em ruminantes, sendo associada a infecções virais crônicas, estimulação antigênica, doenças auto-imunes, lipossarcoma, leucemia linfocitária (Jones & Allison, 2007), o que, acredita-se, não seria o caso dos animais do presente trabalho. Considerando-se então que os linfócitos têm alta capacidade de recirculação e que, por esse motivo torna-se mais difícil definir seu tempo de meia-vida (Thrall, 2007), os aumentos encontrados no presente trabalho passam a não ter implicações significativas, já que não causaria efeitos danosos, caso os animais de fato não tenham sido expostos a antígenos.

## **5 CONCLUSÃO**

De acordo com as alterações observadas nos parâmetros hematológicos, houve uma tendência do maior prejuízo fisiológico quando se analisou os resultados encontrados com o manejo tradicional nos diferentes tempos de transporte. Medidas de manejo gentil, com utilização de comandos de voz e bandeira, durante o pré-embarque acompanhadas de menores tempos de transporte mostraram-se mais benéficos para a manutenção do equilíbrio homeostático-imunológico, o que pode evitar a predisposição dos animais adoecerem durante o transporte ou após o período imediato ao desembarque.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AVERÓS, X.; MARTÍN, S.; RIU, M.; SERRATOSA, J.; GONSÁLVEZ, L.F. Stress response of extensively reared young bulls being transported to growing-finishing farms under Spanish summer commercial conditions. **Livestock Science**, v. 119, p.174–182, 2008.

BERNARDINI, D.; GERARDI, G.; PELI, A.; NANNI COSTA, L.; AMADORI, M.; SEGATO, S. The effects of different environmental conditions on thermoregulation and clinical and hematological variables in long-distance road-transported calves. **Journal of Animal Science**, v. 90, p.1183-1191, 2012.

BLOKHUIS, H.J.; KEELING, L.J.; GAVINELLI A.; SERRATOSA, J. Animal welfare's impact on the food chain. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, 2008.

BROOM, D.M. Causes of poor welfare in large animals during transport. **Veterinary Research Communications**, v.1, n.27, p. 515 – 518, 2003.

BROOM, D.M. The effects of land transport on animal welfare. **Revue scientifique et technique** (International Office of Epizootics), v. 24, p. 683-691, 2005.

CHACON, G.; GARCIA-BELENGUER, S.; VILLARROEL, M.; MARIA, G.A. Effect of transport stress on physiological responses of male bovines. **Dtsch Tierarztl. Wochenschr.**, v. 112, p. 465–469, 2005.

COSTA, J.N.; BENESI, F.J.; BIRGEL, E.H.; D'ANGELINO, J.L.; AYRES, M.C.C.; BARROS FILHO, I.R. Fatores etários no leucograma de fêmeas zebuínas sadias da raça nelore (*Bos indicus*). **Ciência Rural**, v. 30, n. 3, 2000.

DIXIT, V.D.; MARAHRENS, M.; PARVIZI, N. Transport stress modulates adrenocorticotrophin secretion from peripheral bovine lymphocytes. **Journal of Animal Science**, v.79, p. 729–734, 2001.

EARLEY, B.; DRENNAN, M.; O'RIORDAN, E.G. The effect of road transport in comparison to a novel environment on the physiological, metabolic and behavioural responses of bulls. **Research in Veterinary Science**, v. 95, p. 811–818, 2013.

GEORGE, J.W.; SNIPES, J.; LANE, V.M. Comparison of bovine hematology reference intervals from 1957 to 2006. **Veterinary Clinical Pathology**, v.39, p.138–148, 2010.

GRANDIN, T. Assessment of stress during handling and transport. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 249 – 257, 1997.

GREATOREX, J.C. Studies on the haematology of calves from birth to one year of age. **British Veterinary Journal**, v.110, p.1220-1238, 1954.

GUPTA, S.; EARLEY, B.; CROWE, M.A. Effect of 12-hour road transportation on physiological, immunological and haematological parameters in bulls housed at different space allowances. **The Veterinary Journal**, v.173, p. 605–616, 2007.

JAIN, C.N. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.417 p.

JONES, M.L.; ALLISON, R.W. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. **Veterinary Clinics Food Animal Practice**, v. 23, p. 377–402, 2007.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6<sup>th</sup> ed. San Diego: Academic Press. 2008, 916p.

KENT, J.E.; EWBANK, R. The effect of road transportation on the blood constituents and behaviour of calves six months old. **British Veterinary Journal**, v. 139, p. 228-235, 1983.

LJUNGBERG, D.; GEBRESENBET, G.; ARADOM, S. Logistics Chain of Animal Transport and Abattoir Operations. **Animal Production Technology - Biosystems Engineering**, v. 96, n. 2, p. 267–277, 2007.

LOPES, S.T.A.; BIONDO, A.W.; SANTOS, A.P. **Manual de patologia clínica veterinária**. 3ª ed., 2007. UFSM - Universidade Federal de Santa Maria. CCR - Centro De Ciências Rurais.

RICHARDSON, C. Reducing cattle shrink. Ministry Of Agriculture, Food And Rural Affairs. **Animal Science**. Order no. 05-063, 2005.

SPOKER, K.R.B.; WEBER, P.S.D.; BURTON, J.L.; EARLEY, B., CROWE, M.A. Transportation of young beef bulls alters circulating physiological parameters that may be effective biomarkers of stress. **Journal of Animal Science**, v. 86, p.1325-1334, 2008.

STANGER, K.J.; KETHEESAN, N.; PARKER, A.J.; COLEMAN, C.J.; LAZZARONI, S.M.; FITZPATRICK, L.A. The effect of transportation on the immune status of Bos indicus steers. **Journal of Animal Science**, v. 83, p.2632–2636, 2005.

STRAPPINI, A.C.; METZ, J.H.M.; GALLO, C.B.; KEMP, B. Origin and assessment of bruises in beef cattle at slaughter. **Animal**, v. 3, p. 728–736, 2009.

THRALL, M.A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 1ª edição: São Paulo, Roca, 2007. 582p.

VAN DE WATER, G.; VERJANS, F.; GEERS, R. The effect of short distance transport under commercial conditions on the physiology of slaughter calves, pH and colour profiles of veal. **Livestock Production Science**, v. 82, p. 171–179, 2003.

### **CAPÍTULO 3**

## **BIOQUÍMICO SÉRICO DE BOVINOS SUBMETIDOS A DIFERENTES TIPOS DE MANEJO PRÉ-EMBARQUE E TEMPOS DE TRANSPORTE**

## RESUMO

O transporte rodoviário de bovinos é um momento extremamente delicado para os produtores e para a indústria da carne, que pode provocar intensas alterações na fisiologia dos animais e, conseqüentemente, alterar a qualidade do produto. Vinte e quatro bovinos jovens machos da raça Nelore foram submetidos a três tipos de manejo pré-embarque em caminhão boiadeiro (tradicional, com treinamento e com bandeira) e três tempos de viagens (24, 48 e 72 horas). Dos 24 animais, 6 ficavam na fazenda a cada momento, selecionados de acordo com o peso corporal, para serem os controles. O sangue dos animais foi coletado antes e após cada momento de viagem e os parâmetros bioquímicos séricos – aspartato aminotransferase (AST), albumina (ALB), fosfatase alcalina (FA), glicose (GLI), proteína (PTN), creatino quinase (CK), frutossamina (FrAM), proteína plasmática total (PPT) – foram analisados. A viagem de 48 horas associada ao manejo com treinamento apresentou maiores valores de AST e albumina e o menor de FA, indicando presença de desidratação e dano muscular. Ao desembarque, os animais tiveram altos valores de PPT, bem como com a aplicação do manejo tradicional e com as viagens de 48 horas de duração, mostrando que a desidratação foi recorrente no estudo. A elevação de glicose por possível estresse foi observada em viagem de 24 horas com manejo tradicional, indicando que o manejo pouco gentil ou tradicional é um momento de intenso estresse. Dessa forma, foi constatado que o manejo pré-embarque e o transporte rodoviário causam estresse e desidratação nos bovinos, podendo comprometer os parâmetros fisiológicos dos animais antes do abate.

**Palavras-chave:** alterações bioquímicas, homeostase, qualidade de carne, transporte rodoviário.

## ABSTRACT

### SERUM BIOCHEMICAL OF CATTLE SUBJECTED TO DIFFERENT TYPES OF PRE-SHIPMENT HANDLING AND TRANSPORT TIMES

Road transport of cattle is an extremely delicate moment for producers and for the meat industry, which can cause severe changes in the physiology of the animals and consequently modify the quality of the product. Twenty-four young male Nellore cattle underwent three types of pre-loading handling (traditional, with training and with flag) and three travel times (24, 48 and 72 hours). Of the 24 animals, six stayed at the farm, being selected according to body weight, to be the controls. The blood of animals was collected before and after each trip and serum biochemical parameters – aspartate aminotransferase (AST), albumin (ALB), alkaline phosphatase (ALP), glucose (GLI), protein (PTN), creatine kinase (CK), fructosamine (FRAM), total plasma protein (PPT) – were analyzed. The 48-hour trip associated with the training handling had higher AST and albumin values and the lowest of ALP, indicating the presence of dehydration and muscle damage. During unloading, the animals had higher PPT values, as well as the application of traditional handling and the 48-hour trips, showing that dehydration was recurrent in the study. The elevation of glucose by possible stress was observed in 24 hours of travel with traditional handling, indicating that the unkind or traditional handling is a time of intense stress. In this way, it revealed that the pre-loading handling and road transport cause stress and dehydration in cattle and can compromise the physiological parameters of animals before slaughter.

**Keywords:** meat quality, land transportation, homeostasis, biochemical changes.

## 1 INTRODUÇÃO

O transporte rodoviário de bovinos é um momento extremamente delicado para os produtores e para a indústria da carne. O tipo de caminhão, as condições das estradas, o manejo pré-embarque, transporte e desembarque dos animais são situações que afetam diretamente as condições fisiológicas dos indivíduos e, já que tudo isto é realizado antes do abate, pode comprometer a qualidade do produto final. A ausência de alimento e água, o desequilíbrio energético durante o transporte conduzem os animais à fadiga podendo causar a depleção nos níveis de glicogênio muscular, necessário no momento pós-abate de transformação de músculo em carne. Assim, é possível que quanto mais longas as jornadas de transporte, maior seja sua influência negativa na qualidade do produto. Ainda, a realização de viagens sem o oferecimento de água e em altas temperaturas como é comumente realizado no Brasil pode trazer prejuízos relacionados à desidratação e perda de peso dos animais, fatores que também causam diminuição das condições de bem-estar dos animais e do retorno econômico do processo. Alguns autores inclusive sugerem que deve ser feita uma preparação dos animais antes do transporte, com fornecimento de alimentos energéticos e regulação do balanço de fluidos corporais, sendo ainda preciso realizar paradas durante a viagem para descanso, hidratação e alimentação com o objetivo de manter a homeostase corporal (Marahrens et al., 2011).

Além disso, o tipo de manejo pré-embarque adotado e as viagens podem causar lesões musculares, sendo indicados pelas modificações na liberação de enzimas como creatina quinase e aspartato aminotransferase, sendo esse também fator de extrema importância no que se refere ao aproveitamento da carcaça. Assim, as formas de condução ao meio de transporte, a realização de viagens longas e em caminhões não completamente adaptados ao carregamento

de carga-viva ou caminhões espécie-específicos, são fatores que podem causar inúmeros prejuízos pela perda de carcaça por fraturas, lesões, mudanças metabólicas (Grandin, 2003).

Dessa forma, parâmetros bioquímicos tornam-se bons indicadores de influência do manejo para embarque, transporte e desembarque com efeito na homeostase dos animais, podendo indicar a viabilidade de tipos e tempos de viagens a que os animais devem ser submetidos para que sejam causados os menores prejuízos, tanto para o bem-estar dos animais quanto econômicos para o produtor. Logo, tanto do ponto de vista do bem-estar animal quanto financeiro é preciso otimizar as formas de manejo pré-abate de carga-viva afim de minimizar o prejuízo (Van de Water et al., 2003).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Local

O experimento foi realizado na Fazenda Mouraria, propriedade particular localizada no Núcleo Rural Santos Dumont, Planaltina, Distrito Federal, Centro-Oeste, Brasil. A fazenda localiza-se nas coordenadas Lat – 15,676638° e Long – 47,584120°, em altitude de 1240 metros, com clima tropical semiúmido. O trabalho foi realizado durante a época de seca na região, nos meses de maio, junho e julho, com temperaturas que não ultrapassaram os 28°C nas horas mais quentes do dia e com mínimas de 13°C ao início do dia.

### 2.2 Animais e instalações

Foram utilizados 24 bovinos machos da raça Nelore, inteiros, com idade entre um ano e um ano e meio. A média do peso vivo durante o tempo total de experimento para cada um dos diferentes tipos de manejo dos animais foi: tradicional: 224,83±16,08; treinamento: 245,33±15,96; bandeira: 257,05±16,15 kg. Os animais vieram do mesmo local de origem na mesma data, com peso médio ao início do experimento de 229,22 ± 5,32 kg.

Durante o período de experimento, exceto durante o transporte, os animais receberam água, feno, concentrado, sal mineralizado em cocho convencional, sendo liberados a pasto durante os períodos de descanso em piquetes com pastagem tipo *Brachiaria decumbens*.

### 2.3 Método de manejo

Os bovinos passaram por três tipos de manejo, sendo inicialmente o tradicional (pouco gentil), posteriormente passaram por treinamento (manejo gentil) com comando de voz e, finalmente, pelo método de movimentação dos animais com utilização unicamente de bandeira sem comandos de voz. Previamente ao início dos estudos, os animais ficaram em curral para habituação durante 72 horas.

O manejo tradicional envolveu os métodos comumente praticados em fazendas de gado de corte para movimentação dos animais, ou seja, utilização de bastão com ponta metálica (ferrão), comandos de voz em tom alto, assobios e movimentação pouco gentil. Tal forma de manejo foi utilizada para movimentar os animais durante a primeira fase do experimento, para embarque dos mesmos no caminhão de transporte durante períodos de 24, 48 e 72 horas.

Para a segunda fase do estudo, os mesmos indivíduos foram previamente treinados a movimentar-se pelo curral, balança e brete, sendo guiados apenas por comando de voz e movimentação do treinador, respeitando a zona de fuga dos animais individualmente e em grupo, estimulando a movimentação do líder para condução do gado, sem utilização de qualquer equipamento de manejo ou contato físico. O treinamento descrito foi realizado todos os dias durante uma semana, no período de 4 horas do turno matutino e previamente à realização da segunda fase de embarque, transporte e desembarque dos indivíduos.

A terceira forma de manejo, com utilização de bandeira, foi feita com o treinamento dos bovinos visando a movimentação por meio de visualização de bandeira agitada de acordo com a necessidade pelo tratador para manter o controle dos animais. O treinamento foi realizado utilizando as mesmas bases do treinamento da fase anterior, incluindo o mesmo tratador, formas e horários de manipulação dos indivíduos. Como os animais já haviam sido previamente ensinados a se mover pelo curral e brete de acordo com comandos de voz do tratador, nessa fase houve a substituição deste pela bandeira, sem precisar utilizar qualquer outra forma de comunicação com os animais. O embarque, transporte e desembarque dos indivíduos foi igualmente realizado nessa fase após uma semana de treinamento com bandeira.

## 2.4 Método de transporte

Em cada fase de manejo previamente citados, os animais foram submetidos a transportes e permanência dentro do caminhão por períodos de tempo de 24, 48 e 72 horas em caminhão tipo truck, sendo percorridas as distâncias aproximadas de 200km por dia. Os indivíduos foram embarcados, transportados durante cada período de tempo e finalmente desembarcados. O caminhão percorreu estradas do Distrito Federal e entorno, não podendo extrapolar essas vias por questões de logística. Assim, em diversos momentos, o caminhão manteve-se parado em locais apropriados (postos de gasolina), mas os animais não foram desembarcados, permanecendo no caminhão por todo o tempo definido sem receber água ou alimento. Após as 24 horas de transporte, os bovinos foram desembarcados na fazenda de origem e descansaram por 24 horas, recebendo água, feno e concentrado à vontade. Após 48 horas de viagem o descanso foi de 48 horas, previamente ao embarque para 72 horas de transporte. Após 72 horas de transporte os animais permaneceram em descanso completo por 1 (uma) semana, antes de iniciar o treinamento (com duração de uma semana) para a próxima fase.

Em resumo, a metodologia é apresentada na Figura 3.1 abaixo:

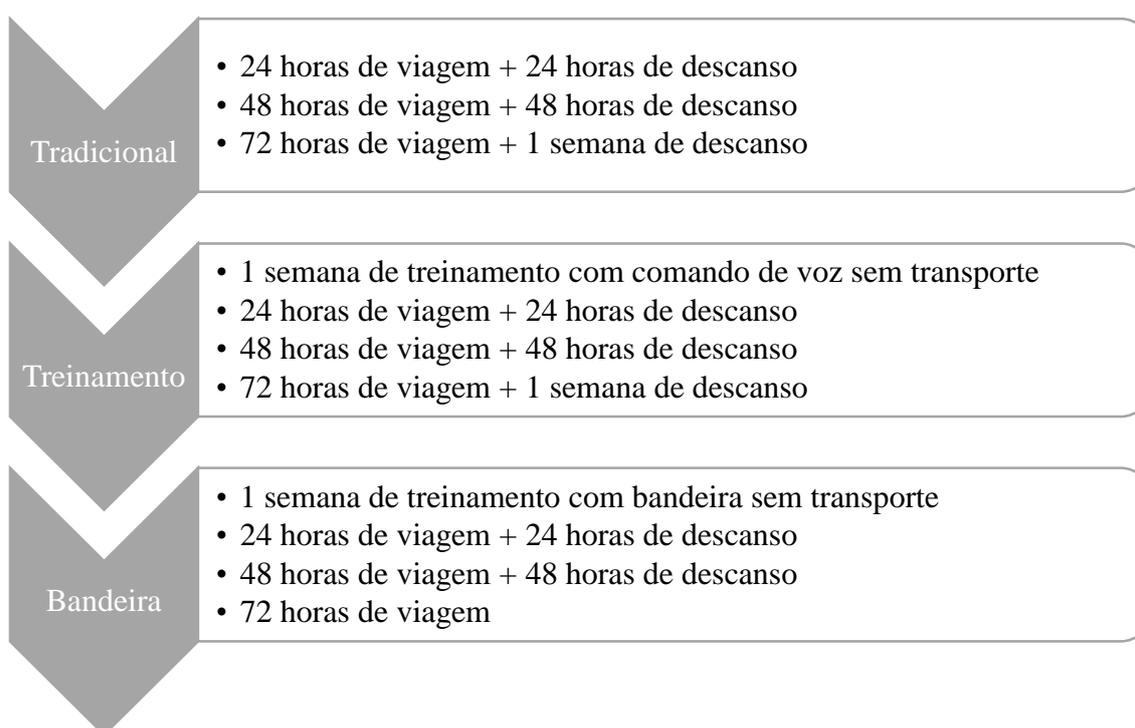


Figura 3.1. Esquema da realização do experimento de campo.

## **2.5 Coleta, processamento e análise das amostras**

Imediatamente antes do embarque e subsequente ao desembarque dos animais para cada período de transporte em cada um dos três tipos de manejo, foram coletadas amostras sanguíneas de todos os indivíduos. Amostras de sangue foram coletadas de cada animal com o auxílio de tubos à vácuo (Vacutainer®) da veia coccígea ventral. Uma das amostras em tubo com EDTA foi utilizada para a realização de hemograma e leucograma. Após coleta, os tubos foram acondicionados em caixa térmica para posterior análise realizada no Laboratório de Patologia Clínica da Universidade de Brasília, localizado no Hospital Veterinário de Pequenos Animais.

O sangue coletado em tubo sem anticoagulante foi utilizado para as análises de aspartato aminotransferase (AST), albumina (ALB), fosfatase alcalina (FA), glicose (GLI), proteína (PTN), creatino quinase (CK), frutossamina (FrAM), proteína plasmática total (PPT), as quais foram realizadas utilizando-se kits comerciais Labtest e a leitura de absorbância foi feita em analisador bioquímico semiautomático (Bioplus® BIO 2000).

## **2.6 Métodos estatísticos**

A análise dos dados foi feita com utilização do pacote Statistical Analysis System ® (SAS Inc, Cary, NC, USA), avaliando os efeitos dos fatores fixos (manejo, tempo de viagem, embarque, desembarque) sobre os fatores variáveis (bioquímico sérico). A análise estatística incluiu análise de variância, correlação e análise de componentes principais.

## **2.7 Aprovação da Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA)**

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal da Universidade de Brasília (CEUA UnB).

### 3 RESULTADOS

Os parâmetros bioquímicos albumina (ALB), glicose (GLI), frutossamina (FrAM) ( $p < 0,001$ ), fosfatase alcalina (FA), proteína (PTN) ( $p < 0,01$ ) e aspartato aminotransferase (AST) ( $p < 0,05$ ) apresentaram interação significativa entre os tratamentos de manejo e tempo de viagem (Tabela 3.1).

Tabela 3.1. Probabilidade estatística dos parâmetros bioquímicos séricos dos bovinos em estudo.

	Parâmetros							
	AST (UI/L)	ALB (g/dL)	FA (UI/L)	GLI (mg/dL)	PTN (g/dL)	CK (UI/L)	FrAm ( $\mu\text{mol/L}$ )	PPT (g/dL)
R <sup>2</sup>	0,11	0,14	0,32	0,46	0,25	0,08	0,24	0,18
CV	24,86	16,15	37,40	19,86	10,42	139,71	14,62	7,13
Manejo	***	ns	***	***	***	***	ns	***
Tempo	ns	ns	ns	***	ns	ns	***	**
Manejo x Tempo	*	***	**	***	**	ns	***	ns
EMBDES	ns	ns	**	ns	ns	ns	***	***

AST: aspartato aminotransferase; ALB: albumina; FA: fosfatase alcalina; GLI: glicose; PTN: proteína; CK: creatino quinase; FrAM: frutossamina; PPT: proteína plasmática total; R<sup>2</sup>: coeficiente de determinação; CV: coeficiente de variação; EMBDES: embarque e desembarque; ns: não significativo, \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .

O período de 48 horas de viagem com manejo pré-embarque treinamento apresentou resultados de aspartato aminotransferase e fosfatase alcalina de maior e menor valor médio, respectivamente (Tabela 3.2). Ainda, nesse momento foi observado o maior nível de albumina. A quantidade de glicose presente no sangue teve uma queda progressiva do manejo mais estressante (tradicional) no período de 24 horas de transporte até o final do menos estressante (com bandeiras) no período de 72 horas de transporte. Ainda, em todos os períodos de viagem com manejos tradicional e treinamento (gentil) a glicose manteve-se acima dos níveis de referência, conforme apresentado na Tabela 3.2. A avaliação da frutossamina demonstrou que o único momento de alteração dessa enzima, com aumento acima dos limites de referência, foi com aplicação de manejo tradicional e 72 horas de viagem. Quando a proteína sérica foi analisada em diversos momentos do estudo, ficou elevada, acima dos valores de referência, exceto ao início do estudo, nas viagens com manejo tradicional (Tabela 3.2).

Tabela 3.2. Efeito da interação entre manejo e tempo de viagem sobre os parâmetros do bioquímico sérico dos bovinos.

<b>Aspartato aminotransferase – AST (UI/L)</b>				<b>Valores de Referência</b>
Manejo	Tempo			
	24	48	72	
Tradicional	82,87	74,58 <sup>B</sup>	80,78 <sup>A</sup>	11 – 40
Treinamento	80,06 <sup>ab</sup>	85,38 <sup>Aa</sup>	75,29 <sup>ABb</sup>	
Bandeira	74,18	65,99 <sup>B</sup>	66,17 <sup>B</sup>	
<b>Albumina – ALB (g/dL)</b>				
Manejo	Tempo			
	24	48	72	
Tradicional	2,68 <sup>ABab</sup>	2,60 <sup>Bb</sup>	2,84 <sup>a</sup>	3,03 – 3,55
Treinamento	2,58 <sup>Bb</sup>	2,94 <sup>Aa</sup>	2,81 <sup>a</sup>	
Bandeira	2,83 <sup>A</sup>	2,78 <sup>AB</sup>	2,67	
<b>Fosfatase Alcalina – FA (UI/L)</b>				
Manejo	Tempo			
	24	48	72	
Tradicional	78,62 <sup>B</sup>	88,75 <sup>B</sup>	91,10 <sup>B</sup>	0 – 488
Treinamento	125,86 <sup>Aa</sup>	97,25 <sup>Bb</sup>	92,70 <sup>Bb</sup>	
Bandeira	141,50 <sup>A</sup>	129,58 <sup>A</sup>	140,12 <sup>A</sup>	
<b>Glicose – GLI (mg/dL)</b>				<b>Valores de Referência</b>
Manejo	Tempo			
	24	48	72	
Tradicional	106,56 <sup>Aa</sup>	85,75 <sup>Ab</sup>	80,65 <sup>Ab</sup>	45 – 75
Treinamento	87,36 <sup>Ba</sup>	80,95 <sup>Aab</sup>	78,08 <sup>Ab</sup>	
Bandeira	65,70 <sup>C</sup>	64,26 <sup>B</sup>	58,88 <sup>B</sup>	
<b>Frutosamina – FrAM (µmol/L)</b>				
Manejo	Tempo			
	24	48	72	
Tradicional	219,19 <sup>Bb</sup>	220,42 <sup>Bb</sup>	271,22 <sup>Aa</sup>	213,4 – 265
Treinamento	238,05 <sup>A</sup>	246,60 <sup>A</sup>	252,82 <sup>B</sup>	
Bandeira	241,92 <sup>A</sup>	244,76 <sup>A</sup>	245,83 <sup>B</sup>	
<b>Proteína – PTN (g/dL)</b>				
Manejo	Tempo			
	24	48	72	
Tradicional	6,86 <sup>Cb</sup>	6,93 <sup>Bb</sup>	7,33 <sup>Ba</sup>	6,74 – 7,46
Treinamento	8,11 <sup>A</sup>	8,03 <sup>A</sup>	8,03 <sup>A</sup>	
Bandeira	7,52 <sup>B</sup>	7,66 <sup>A</sup>	7,30 <sup>B</sup>	

Valores de referência segundo Kaneko (1997);

Médias na mesma linha com letras minúsculas iguais são equivalentes;

Médias na mesma coluna com letras maiúsculas iguais são equivalentes. ( $P \leq 0,05$ ).

O manejo, isoladamente, provocou diferenças em valores de creatina quinase (CK) e proteína plasmática total (PPT), sendo que os maiores valores desses dois parâmetros ocorreram durante a aplicação do manejo tradicional (Tabela 3.3).

Tabela 3.3. Diferenças nos parâmetros bioquímicos séricos de CK e PPT entre os tipos de manejo aplicados aos bovinos.

	CK (UI/L)	PPT (g/dL)
Tradicional	4,59 <sup>A</sup>	7,61 <sup>A</sup>
Treinamento	3,08 <sup>B</sup>	7,47 <sup>AB</sup>
Bandeira	2,10 <sup>B</sup>	7,37 <sup>B</sup>

CK: creatina quinase; PPT: proteína plasmática total; médias com letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença estatística. ( $P \leq 0,05$ ).

O tempo de viagem de 48 horas foi significativo para proteínas plasmáticas totais, aumentando seu valor nesse momento, bem como o momento de desembarque quando comparado ao embarque (Tabela 3.4).

Tabela 3.4. Diferenças no parâmetro do bioquímico sérico entre os tempos de transporte aplicados aos bovinos.

	PPT (g/dL)
24 horas	7,50 <sup>AB</sup>
48 horas	7,59 <sup>A</sup>
72 horas	7,36 <sup>B</sup>

PPT: proteína plasmática total; médias com letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença estatística. ( $P \leq 0,05$ ).

Já os valores médios de fosfatase alcalina (FA) diminuíram com a realização do transporte, ao se comparar os embarques e desembarques (Tabela 3.5).

Tabela 3.5. Diferenças entre embarque e desembarque nos parâmetros do bioquímico sérico dos bovinos.

	FA (UI/L)	FrAm ( $\mu\text{mol/L}$ )	PPT (g/dL)
Embarque	115,90 <sup>A</sup>	230,30 <sup>B</sup>	7,29 <sup>B</sup>
Desembarque	103,10 <sup>B</sup>	254,32 <sup>A</sup>	7,67 <sup>A</sup>

FA: fosfatase alcalina; FrAM: frutosamina; PPT: proteína plasmática total; médias com letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença estatística. ( $P \leq 0,05$ ).

## 4 DISCUSSÃO

As variações nos parâmetros bioquímicos sanguíneos podem ser indicadores de que os animais estão sendo submetidos a situações estressantes que podem tornar-se patológicas. A submissão a viagens é exemplo disso, podendo levar os indivíduos a situações extremas de saída do seu estado de equilíbrio fisiológico e, conseqüentemente, mudança em suas condições de bem-estar.

A enzima AST pode ser excessivamente liberada em casos de dano muscular esquelético (Russel & Roussel, 2007). Porém, esse aumento sérico dessa enzima pode também indicar dano hepático. Para diferenciar o tipo de lesão ocorrida, é feita também a análise da enzima FA, a qual fica aumentada em casos de lesão hepática. Dessa forma, as mudanças observadas no presente estudo mostraram que a interação entre o manejo treinamento (gentil) e as 48 horas de permanência no caminhão ocasionou as maiores concentrações de AST, achado que pode ser indicativo de maiores danos em músculos esqueléticos, especialmente como ocorrido, combinado com os menores valores de FA. A AST é liberada excessivamente em casos de lesões em músculos esqueléticos ou hepáticas, porém, em caso de lesão no fígado, fica aumentada também a FA. Por esse motivo utiliza-se a observação dos dois parâmetros para que possa ser feita a diferenciação entre dano hepático e muscular. No caso da viagem de 48 horas com aplicação de manejo gentil pré-embarque os baixos índices de FA indicam que, de fato os danos foram em musculatura esquelética. Nesse mesmo momento, os animais apresentaram-se mais desidratados, já que os valores da proteína albumina foram os mais elevados, demonstrando a presença de hemoconcentração pela perda de fluidos corporais. Considerando o momento, acredita-se ter ocorrido um fato pontual possivelmente não relatado durante o transporte dos animais ou até mesmo na coleta ou processamento das amostras, pois em nenhum outro momento do estudo foram observadas alterações similares. Bernardini e colaboradores

(2012) em estudo realizado com vacas holandesas em transporte rodoviário de 19 horas da Polônia à Itália encontraram os maiores valores de AST ao fim da jornada, assim como Uetake e colaboradores (2009) em experimento com vacas de raças cruzadas, comprovando que o exercício intenso pode elevar a atividade da AST.

Os maiores valores observados de creatina-quinase (CK) no manejo tradicional podem indicar a ocorrência de lesões musculares, o que já foi descrito em estudos anteriores com transporte (Earley et al., 2006; Earley et al., 2012), podendo, por essa razão, ser um bom indicador do grau bem-estar durante todo o procedimento de embarque e transporte (Averós et al., 2008). Em relação aos tempos de viagem, não houveram diferenças nas concentrações encontradas de CK para os diferentes tempos de permanência no caminhão, o que pode ser um indicativo de que todas elas causam danos, conforme observado por Van de Water e colaboradores (2003) que encontraram resultados de aumento da enzima CK após transportes com duração média de 2 horas e meia, e Bernardini e colaboradores (2012) em estudo de 19 horas de transporte, indicando que mesmo curtos tempos de viagem podem causar lesões tissulares e diminuição nas condições de bem-estar dos indivíduos pela fadiga causada pelo transporte. Ainda, Gruber e colaboradores (2010) encontraram que os maiores níveis de CK foram obtidos de animais que sofreram danos musculares durante os procedimentos de manejo pré-abate e transporte.

A associação entre estresse e alterações glicêmicas é comprovada (Cafazzo et al., 2012), já que a situação estressante exige maior aporte energético (Browning & Leite-Browning, 2013). Ficou claro no presente estudo que há requisição desse monossacarídeo durante os períodos de embarque e transporte, sendo que o primeiro momento de viagem, 24 horas de transporte com manejo pré-embarque tradicional, foi o que mais requisitou energia dos animais, apresentando, assim, o maior valor glicêmico médio. Similarmente, diversos estudos mostram o aumento nos valores desse parâmetro após diversos tempos de viagem (Tadich et al., 2005; Averós et al, 2008; Cafazzo et al., 2012; Browning & Leite-Browning, 2013), porém já foi apresentada a diminuição nos níveis de glicose após transporte (Bernardini et al., 2012) e com momentos de descanso (Hulbert et al., 2011). Ao que parece, pelo presente trabalho, o manejo com bandeira associado a todos os tempos de viagem, considerando-se o índice glicêmico, foi o menos estressante, com menor necessidade de liberação de glicose no ambiente sanguíneo, pois durante a aplicação desse manejo os valores médios do açúcar mantiveram-se dentro dos limites de normalidade para bovinos. Esse achado coincide com o que foi observado por Lensink e colaboradores (2001), que encontraram altos níveis de

glicogênio muscular ao abate de bovinos que receberam manejo gentil quando comparados a animais que passaram por tratamento mais agressivo. Assim, houve quebra do glicogênio muscular para obtenção de glicose como fonte de energia nos momentos de estresse do experimento, podendo ter sido influenciada tanto pelo tempo de viagem quanto pelo tipo de manejo adotado para embarque. Dessa forma, a variação em níveis de glicose está diretamente relacionada ao estresse sofrido pelos animais durante o manejo pré-abate e as viagens com ativação do eixo hipotálamo – hipófise – adrenal (Swanson & Morrow-Tesch, 2001). Essas variações são de extrema importância para a indústria da carne, pois o glicogênio muscular, precursor da glicose, é essencial no momento de transformação de músculo em carne no processo pós-abate. A requisição de glicose muscular durante o transporte, com utilização desse glicogênio, pode afetar diretamente a qualidade da carne, sendo um importante fator a ser considerado ao se avaliar o tempo de transporte dos animais no momento pré-abate. Assim, a depleção de glicogênio muscular nesse momento pré-abate é amplamente reconhecida como a causadora de carne dura, firme e seca (DFD) (Gruber et al., 2010). Quando as reservas de glicogênio muscular são insuficientes no momento do abate, os valores de pH no músculo ficam acima de 5,8, e em casos mais extremos, surge a carne DFD (Ferreira et al., 2009). Assim, o tempo de prateleira desse produto fica reduzido, além de ser discriminado pelo consumidor devido a sua cor, por ser mais duro e ter pouca capacidade de retenção de água, o que acaba gerando perdas econômicas para a indústria da carne (Gregory, 2003). Dessa forma, deve-se fazer claras considerações antes de decidir por transportes de carga – viva de longa duração.

A frutossamina sérica, por ser uma cetoamina estável derivada de uma reação não enzimática do açúcar com grupos aminas das proteínas, especialmente a albumina, tem relação direta com a concentração de glicose e albumina séricas. Essa correlação é dada no intervalo aproximado de 3 semanas, ou seja, a concentração de frutossamina mensurada hoje reflete a glicose de 21 dias atrás. Assim, se a concentração de albumina está dentro da normalidade, os índices de frutossamina relacionam-se aos níveis de glicose sérica que se modificaram há cerca de 3 semanas. Dessa forma, os níveis de frutossamina aumentam em casos de hiperglicemia ou hiperalbuminemia, podendo também reduzir nas condições inversas (Bernstein, 1987; Jansen et al., 1992; Kaneko, 2008). Assim, no caso das primeiras viagens (manejo tradicional), as variações apresentadas pelos níveis de frutossamina são relacionadas às curvas glicêmicas e concentrações de albumina em momentos prévios ao estudo. A relação que poderia ser feita seria entre os níveis de glicose e de albumina nas viagens em manejo tradicional e os valores de frutossamina nas últimas viagens, com manejo bandeira, já que a enzima reflete níveis do

monossacarídeo e da proteína em aproximadamente 3 semanas anteriores. Porém, a albumina não apresentou alterações significativas nos primeiros transportes com manejo tradicional e a glicose esteve acima dos limites de referência, porém não foi possível estabelecer uma relação entre os parâmetros. Dessa forma, a avaliação do parâmetro frutossamina no presente estudo não se mostrou eficiente para determinações mais precisas.

O primeiro momento de viagem do estudo, 24 horas de duração com aplicação de manejo tradicional pré-embarque, foi responsável pela apresentação do menor valor de proteínas séricas observado. Esse fato pode ocorrer pela possível liberação excessiva de glicocorticóides, os quais promovem a redução nos níveis de proteína (Gruber et al., 2010). Por ter sido o primeiro momento de transporte do estudo, com aplicação de um manejo possivelmente aversivo pode ter ocorrido essa liberação excessiva de cortisol, o qual provocou o aumento de proteínas séricas na circulação.

Devido ao aumento de proteína plasmática total ao desembarque quando comparado ao embarque, sugere-se que os animais sofreram desidratação decorrente do transporte. É importante ressaltar que o maior nível de desidratação, com aumento mais intenso dos níveis de PPT e albumina, ocorreram em viagens com 48 horas de duração e desse com interação com o manejo treinamento, respectivamente. Esses achados relacionados ao manejo pré-embarque com treinamento interagindo com 48 horas de viagem corroboram a hipótese de ocorrência de algum fato desconhecido que provocou alterações consideráveis nesse momento do estudo. Assim, as concentrações séricas de proteína total e albumina são marcadores eficientes de desidratação por serem indicadores de homeostase proteica (Earley et al., 2013), já tendo sido demonstrado achados que corroboram os do presente experimento em diversos estudos que envolvem o transporte rodoviário de bovinos (Knowles et al., 2000; Earley & O'Riordan, 2006, Earley et al., 2012, Earley et al., 2013).

## **5 CONCLUSÃO**

O transporte dos animais em geral causou estresse e afetou as condições de bem-estar dos bovinos. As diversas alterações encontradas indicam que os animais foram submetidos a situações adversas que exigiram maior utilização de energia, causaram danos nos tecidos musculares e alteraram o estado de homeostase. Ainda, foi possível verificar que houve desidratação durante diversos momentos de viagens.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AVERÓS, X.; MARTÍN, S.; RIU, M.; SERRATOSA, J.; GOSÁLVEZ, L.F. Stress response of extensively reared young bulls being transported to growing-finishing farms under Spanish summer commercial conditions. **Livestock Science**, v. 119, p.174–182, 2008.

BERNARDINI, D.; GERARDI, G.; PELI, A.; NANNI COSTA, L.; AMADORI, M.; SEGATO, S. The effects of different environmental conditions on thermoregulation and clinical and hematological variables in long-distance road-transported calves. **Journal of Animal Science**, v. 90, p.1183-1191, 2012.

BERNSTEIN, R.E. Nonenzymatically glycation of proteins. **Advanced Clinical Chemistry**, v. 26, p. 1–78, 1987.

BROWNING, R.JR.; LEITE-BROWNING, M.L. Comparative stress responses to short transport and related events in Hereford and Brahman steers. **Journal of Animal Science**, v.91, p. 957–969, 2013.

CAFAZZO, S.; MAGNANIA, D.; CALÀA, P.; RAZZUOLI, E.; GERARDIC, G.; BERNARDINI, D.; AMADORI, M.; NANNI COSTA, L. Effect of short road journeys on behaviour and some blood variables related to welfare in young bulls. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 139, p. 26– 34, 2012.

EARLEY, B.; FISHER, A.D.; O'RIORDAN, E.G. Effects of pre-transport fasting on the physiological responses of young cattle to 8 h road transport. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, v. 45, p. 51–60, 2006.

EARLEY, B.; O'RIORDAN, E.G. Effects on transporting bulls at different space allowances on physiological, haematological and immunological responses to a 12 h journey by road. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, v. 45, p. 39 – 50, 2006.

EARLEY, B.; MURRAY, M.; PRENDIVILLE, D.J.; PINTADO, B.; BORQUE, C.; CANALI, E. The effect of transport by road and sea on physiology, immunity and behaviour of beef cattle. **Research Veterinary Science**, v. 92, p. 531–541, 2012.

EARLEY, B.; DRENNAN, M.; O'RIORDAN, E.G. The effect of road transport in comparison to a novel environment on the physiological, metabolic and behavioural responses of bulls. **Research in Veterinary Science**, v. 95, p. 811–818, 2013.

FERREIRA, F.; CAMPOS, W.E.; CARVALHO, A.U.; PIRES, M.F.A.; MARTINEZ, M.L.; SILVA, M.V.G.B.; VERNEQUE, R.S.; SILVA, P.F. Parâmetros clínicos, hematológicos, bioquímicos e hormonais de bovinos submetidos ao estresse calórico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.4, p.769-776, 2009.

GRANDIN, T. Transferring results of behavioral research to industry to improve animal welfare on the farm, ranch and the slaughter plants. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 81, p. 215–228, 2003.

GRUBER, S.L.; TATUM, J.D.; ENGLE, T.E.; CHAPMAN, P.L.; BELK, K.E.; SMITH, G.C. Relationships of behavioral and physiological symptoms of preslaughter stress to beef longissimus muscle tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 1148–1159, 2010.

HULBERT, L.E.; CARROLL, J.A.; BURDICK, N.C.; RANDEL, R.D.; BROWN, M.S.; BALLOU, M.A. Innate immune responses of temperamental and calm cattle after transportation. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 143, p. 66–74, 2011.

JENSEN, A.L. Serum fructosamine in canine diabetes mellitus: An initial study. **Veterinary Research Communications**, v. 16, p. 1 – 9, 1992.

KANEKO, J.J.; HARVEY, D.W.; BRUSS, W.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5th ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932 p.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6th ed. Academic Press, San Diego, 2008. 916p.

KNOWLES, T.G.; WARRISS, P.D. Stress physiology of animals during transport. In: T. Grandin, Editor, **Livestock handling and transport**, Cabi Publishing, Oxon, UK, 2000. p. 385–407.

LENSINK, B.J.; FERNANDEZ, X.; COZZI, G.; FLORAND, L.; VEISSIER, I. The influence of farmers' behavior on calves' reactions to transport and quality of veal meat. **Journal of Animal Science**, v. 79, p.642-652, 2001.

MARAHRENS, M.; KLEINSCHMIDT, N.; DI NARDO, A.; VELARDE, A.; FUENTES, C.; TRUAR, A.; OTERO, J.L.; DI FEDE, E.; DALLA VILLA, P. Risk assessment in animal welfare – Especially referring to animal transport. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 102, p. 157– 163, 2011.

RUSSELL, K.E.; ROUSSEL, A.J. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practices**, v. 23, p. 403-426, 2007.

SWANSON, J.C.; MORROW-TESCH, J. Cattle transport: historical, research and future perspectives. **Journal of Animal Science**, v. 79, p.102–109, 2001.

TADICH, N.; GALLO, C.; BUSTAMANTE, H.; SCHWERTER, M.; VAN SCHAİK, G. Effects of transport and lairage time on some blood constituents of Friesian-cross steers in Chile. **Livestock Production Science**, v. 93, p. 223–233, 2005.

THRALL, M.A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 1ª edição: São Paulo, Roca, 2007, 582p.

UETAKE, K.; ISHIWATA, T.; TANAKA, T.; SATO, S. Physiological responses of young cross-bred calves immediately after long haul road transportation and after one week of habituation. **Animal Science Journal**, v.80, p. 705–708, 2009.

VAN DE WATER, G.; VERJANS, F.; GEERS, R. The effect of short distance transport under commercial conditions on the physiology of slaughter calves, pH and colour profiles of veal. **Livestock Production Science**, v. 82, p. 171–179, 2003.

## **CAPÍTULO 4**

### **CONCENTRAÇÕES DE CORTISOL SÉRICO E FECAL DE BOVINOS SUBMETIDOS A DIFERENTES TIPOS DE MANEJO PRÉ-EMBARQUE E TEMPOS DE TRANSPORTE**

## RESUMO

A mensuração de cortisol tem sido amplamente utilizada na avaliação de estresse e bem-estar de animais. Vinte e quatro bovinos Nelore, machos e inteiros foram submetidos a três diferentes tipos de manejo pré-embarque e tempos de transporte. Os manejos incluíram o tradicional (aversivo), com treinamento (gentil) e com bandeira. Os tempos de viagem rodoviária foram de 24, 48 e 72 horas. Cada tipo de manejo foi associado a cada tempo de transporte. Seis animais escolhidos aleatoriamente ficaram na fazenda a cada viagem, servindo como controle. Amostras de sangue e fezes foram coletadas previamente a cada embarque e imediatamente após cada desembarque para análise de cortisol sérico e fecal. A interação entre o manejo com bandeira e as viagens de 48 e 72 horas apresentaram os maiores valores de cortisol sérico e fecal. Por terem sido os últimos momentos do estudo, é possível que os animais tenham feito uma correlação com experiências prévias negativas (viagens anteriores associadas a manejos tradicional e treinamento). O cortisol mensurado no momento de desembarque mostrou-se mais elevado que o cortisol antes da viagem (ao embarque), sugerindo que o transporte rodoviário é um evento realmente estressante para bovinos.

**Palavras-chave:** alteração hormonal, bem-estar animal, estresse.

## ABSTRACT

### SERUM AND FECAL CORTISOL CONCENTRATIONS IN CATTLE SUBJECTED TO DIFFERENT TYPES OF PRE-LOADING HANDLING AND TRANSPORT TIMES

The measurement of cortisol has been widely used in the evaluation of stress and welfare of animals. Twenty-four Nellore young whole males underwent three different types of pre-loading handling and transport times. The handlings used were traditional (aversive), with training and with flag (kind). The road travel times were 24, 48 and 72 hours. Each type of handling has been associated with each transport time. Six animals were randomly chosen and stayed on the farm in every trip, serving as a control. Samples of blood and feces were collected prior to each loading and immediately after each disembarkation for analysis of serum and fecal cortisol. The interaction between the handling with flag and the 48 and 72 travel hours showed higher serum and fecal cortisol values. Considering that these were the last moments of the study, it is possible that the animals have made a negative correlation with previous experience (previous trips associated with traditional and training handlings). Cortisol measured at the time of unloading was shown to be higher than the cortisol before the trip (loading), suggesting that the road trip was a stressful event for cattle.

**Keywords:** animal welfare, hormonal alteration, stress.

## 1 INTRODUÇÃO

A avaliação do grau de bem-estar animal por meio da mensuração de cortisol em diferentes compartimentos do organismo do animal tem sido amplamente utilizada para avaliar o nível de estresse dos animais em inúmeras situações, desde animais selvagens até animais domésticos. Os métodos de coleta de glicocorticoides podem alterar os resultados, sendo os métodos não invasivos, como a coleta de fezes ou de urina, os mais indicados por não envolverem a manipulação de agulhas para a obtenção das amostras, ou em algumas ocasiões a contenção ou imobilização, eventos esses que poderiam causar interferência nos resultados, por ser um fator estressante em si.

Eventos estressantes estão associados ao aumento na concentração de cortisol e pode-se considerar que mudanças no ambiente podem induzir esse aumento (Fraser & Broom, 1990). A percepção de eventos potencialmente nocivos (manejo pré-embarque, transporte) provoca respostas fisiológicas nos animais, com ativação do eixo HHA (hipotálamo-hipófise-adrenal) com secreção de glicocorticóides (cortisol ou corticosterona) (Wingfield et al., 1997; Sapolsky et al., 2000). Estes hormônios são originados por uma cascata bioquímica com estimulação primária do sistema límbico incluindo resposta emocional de defesa e frustração prolongada (Tilbrook & Clarke, 2006; Morgan & Tromborg, 2007). Ao ocorrer uma situação estressante ao animal, as informações sensoriais do ambiente são transmitidas para o sistema nervoso central (SNC), estimulando o hipotálamo a produzir e liberar o hormônio liberador de corticotrofina (CRH). Este, por sua vez, estimula a hipófise anterior a secretar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) no sangue. Finalmente, o ACTH promove a síntese e liberação de cortisol (Lehninger, 1985). Dessa forma, é através de estímulos externos do ambiente e hormonais que o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal promove a liberação do cortisol.

Animais de produção são constantemente expostos a eventos estressantes como formação de novos grupos, manejo e transporte. Essa necessidade de lidar constantemente com novos ambientes tem efeito direto no bem-estar do indivíduo, saúde e sucesso reprodutivo, podendo ainda ter efeito negativo na memória e em habilidades cognitivas (Fraser & Broom, 1990).

Apesar da análise dos hormônios esteróides no sangue ser considerada uma forma convencional, os procedimentos para coleta de amostras como a captura, manipulação, contenção e venopunção, representam em si uma fonte de estresse podendo alterar as concentrações do glicocorticóide, requerendo então maior rapidez no procedimento de coleta (Bentson et al., 2000). As concentrações séricas de cortisol podem mudar de forma bastante dramática dentro de uma estreita janela de tempo e render mensurações de menor utilidade para avaliação de estresse (Paramastri et al., 2007), porém é comumente aceito que as concentrações basais normais de glicocorticóides são obtidas se a coleta for realizada dentro de aproximadamente três minutos após a captura (Place & Kenagy, 2000; Romero & Remage-Healey, 2000). Ainda, deve-se considerar que as concentrações plasmáticas de glicocorticóides podem não ser boas indicadoras se utilizadas para avaliar estresse a longo prazo, já que as medidas de esteróides plasmáticos refletem o estado endócrino de um indivíduo em um único ponto no tempo (Van de Kar et al., 1991). Portanto, torna-se necessário verificar se as concentrações de glicocorticóides refletem as mudanças desencadeadas pela situação de interesse e não aquelas induzidas pelo tratamento e procedimento de amostras em si (Romero & Romero, 2002), aliando este a outros indicadores de bem-estar.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Local

O experimento foi realizado na Fazenda Mouraria, propriedade particular localizada no Núcleo Rural Santos Dumont, Planaltina, Distrito Federal, Centro-Oeste, Brasil. A fazenda localiza-se nas coordenadas Lat – 15,676638° e Long – 47,584120°, em altitude de 1240 metros, com clima tropical semiúmido. O trabalho foi realizado durante a época de seca na região, nos meses de maio, junho e julho, com temperaturas que não ultrapassaram os 28°C nas horas mais quentes do dia e com mínimas de 13°C ao início do dia.

### 2.2 Animais e Instalações

Foram utilizados 24 bovinos machos da raça Nelore, inteiros, com idade entre um ano e um ano e meio. A média do peso vivo durante o tempo total de experimento para cada um dos diferentes tipos de manejo dos animais foi: tradicional: 224,83±16,08; treinamento: 245,33±15,96; bandeira: 257,05±16,15 kg. Os animais vieram do mesmo local de origem na mesma data, com peso médio ao início do experimento de 229,22 ± 5,32 kg.

Durante o período de experimento, exceto durante o transporte, os animais receberam água, feno, concentrado, sal mineralizado em cocho convencional, sendo liberados a pasto durante os períodos de descanso em piquetes com pastagem tipo *Brachiaria decumbens*.

### 2.3 Método de Manejo

Os bovinos passaram por três tipos de manejo, sendo inicialmente o tradicional, posteriormente passaram por treinamento com comando de voz e, finalmente, pelo método de movimentação com utilização unicamente de bandeira. Previamente ao início dos estudos, os animais ficaram em curral para habituação durante 72 horas.

O manejo tradicional envolveu os métodos comumente praticados em fazendas de gado de corte para movimentação dos animais, ou seja, utilização de bastão com ponta metálica (ferrão), comandos de voz em tom alto, assobios e movimentação pouco gentil. Tal forma de manejo foi utilizada para movimentar os animais durante a primeira fase do experimento, para embarque dos mesmos no caminhão de transporte.

Para a segunda fase do estudo, os mesmos indivíduos foram previamente treinados a movimentar-se pelo curral, balança e brete, sendo guiados apenas por comando de voz e movimentação do treinador, respeitando a zona de fuga dos animais individualmente e em grupo, estimulando a movimentação do líder para condução do gado, sem utilização de qualquer equipamento de manejo ou contato físico. O treinamento descrito foi realizado todos os dias durante uma semana, no período de 4 horas do turno matutino e previamente à realização da segunda fase de embarque, transporte e desembarque dos indivíduos.

A terceira forma de manejo, com utilização de bandeira, foi feita com o treinamento dos bovinos visando a movimentação por meio de visualização de bandeira agitada de acordo com a necessidade pelo tratador para manter o controle dos animais. O treinamento foi realizado utilizando as mesmas bases do treinamento da fase anterior, incluindo o mesmo tratador, formas e horários de manipulação dos indivíduos. Como os animais já haviam sido previamente ensinados a se mover pelo curral e brete de acordo com comandos de voz do tratador, nessa fase houve a substituição deste pela bandeira, sem precisar utilizar qualquer outra forma de comunicação com os animais. O embarque, transporte e desembarque dos indivíduos foi igualmente realizado nessa fase após uma semana de treinamento com bandeira.

## 2.4 Método de transporte

Em cada fase de manejo previamente citados, os animais foram submetidos a transportes e permanência dentro do caminhão por períodos de tempo de 24, 48 e 72 horas em caminhão tipo truck, sendo percorridas as distâncias aproximadas de 200, 400 e 600 km, respectivamente. Os indivíduos foram embarcados, transportados durante cada período de tempo e finalmente desembarcados. O caminhão percorreu estradas do Distrito Federal e entorno, não podendo extrapolar essas vias por questões de logística. Assim, em diversos momentos, o caminhão manteve-se parado em locais apropriados (postos de gasolina), mas os animais não foram desembarcados, permanecendo no caminhão por todo o tempo definido em jejum hídrico e alimentar. Após as 24 horas de transporte, os bovinos foram desembarcados na fazenda de origem e descansaram por 24 horas, recebendo água, feno e concentrado à vontade. Após 48 horas de viagem o descanso foi de 48 horas, previamente ao embarque para 72 horas de transporte. Após 72 horas de transporte com manejos tradicional e treinamento os animais permaneceram em descanso completo por 1 (uma) semana, entrando em treinamento (com duração de uma semana) para a próxima fase.

Em resumo, a metodologia é apresentada na Figura 4.1 abaixo:

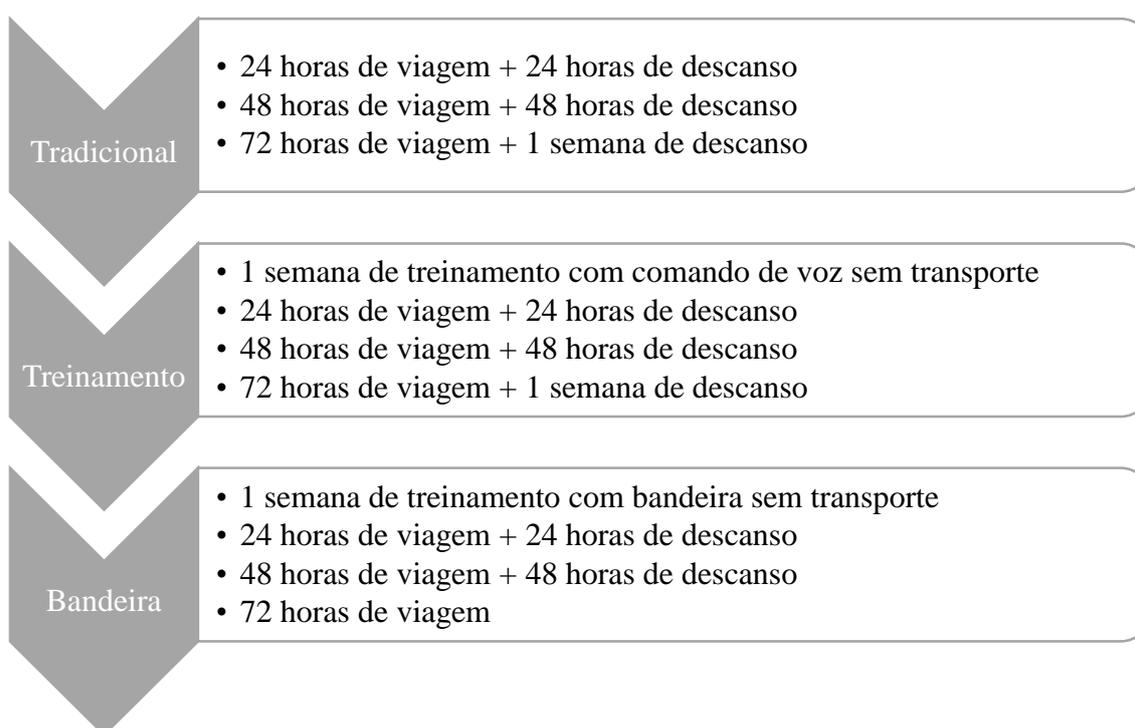


Figura 4.1. Esquema da realização do experimento de campo.

## 2.5 Coleta, processamento e análise das amostras

Imediatamente antes do embarque e subsequente ao desembarque dos animais em cada uma das três durações de transporte de cada um dos três tipos de manejo, foram coletadas amostras sanguíneas de todos os indivíduos, bem como amostras fecais. Amostras de sangue foram coletadas de cada animal com o auxílio de tubos a vácuo (Vacutainer®) da veia coccígea ventral antes do embarque e depois do desembarque em cada um dos tempos de transporte implementados. Amostras de fezes foram coletadas com auxílio de luvas de procedimento devidamente identificadas diretamente do reto dos animais. Após coleta, os tubos e luvas com material foram acondicionados em caixa térmica para posteriores análises realizadas, respectivamente, no Laboratório de Patologia Clínica e Laboratório de Bem-Estar Animal da Universidade de Brasília, localizados no Hospital Veterinário de Pequenos Animais.

O sangue coletado em tubo sem anticoagulante foi utilizado para as análises de cortisol as quais foram realizadas utilizando-se kits comerciais Biochem® e método imunoenzimático ELISA. As fezes passaram por procedimento de diluição e análise também por método ELISA em equipamento Biotek® EL800.

As fezes passaram por protocolo de extração para análise dos metabólitos do cortisol, segundo metodologia definida por Palme e Möstl (1997). Após coleta e resfriamento das amostras, no laboratório essas foram homogeneizadas e pesadas (0,5g). Essa quantidade de fezes foi diluída em 5 ml de metanol 80%, agitada, centrifugada. O sobrenadante foi então retirado para análise pelo método ELISA com utilização de Kits comerciais Biochem®.

## 2.6 Métodos estatísticos

A análise dos dados foi feita com utilização do pacote Statistical Analysis System ® (SAS Inc, Cary, NC, USA), avaliando os efeitos dos fatores fixos (manejo, tempo de viagem, embarque, desembarque) sobre os fatores variáveis (cortisol sérico e fecal). A análise estatística incluiu, análise de variância, correlação e análise de componentes principais.

## **2.7 Aprovação da Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA)**

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal da Universidade de Brasília (CEUA UnB).

### 3 RESULTADOS

Houve interação entre manejo e tempo de viagem nos parâmetros de cortisol analisados, o fecal ( $p < 0,05$ ) e o sérico ( $p < 0,001$ ), conforme apresentado na Tabela 4.1.

Tabela 4.1. Probabilidade estatística dos parâmetros cortisol fecal e sérico dos bovinos do estudo.

	Parâmetros	
	CortF	CortS
R <sup>2</sup>	0,69	0,26
CV	10,04	9,91
Manejo	***	***
Tempo	***	***
ManejoXTempo	*	***
EMBDES	***	**

CortF: cortisol fecal; CortS: cortisol sérico; R<sup>2</sup>: coeficiente de determinação; CV: coeficiente de variação; EMBDES: embarque e desembarque; ns: não significativo, \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .

Os momentos de aplicação do manejo pré-embarque com bandeira associados às viagens de 48 e 72 horas de duração foram os que causaram maior aumento do cortisol fecal e sérico (Tabela 4.2).

Tabela 4.2. Efeito da interação entre manejo e tempo de viagem sobre as concentrações de cortisol dos bovinos.

<b>Cortisol Fecal (<math>\mu\text{g/dl}</math>)</b>			
Manejo	Tempo		
	24	48	72
Tradicional	3,19 <sup>Cc</sup>	3,52 <sup>Cb</sup>	3,85 <sup>Ca</sup>
Treinamento	3,88 <sup>Bb</sup>	4,08 <sup>Bb</sup>	4,51 <sup>Ba</sup>
Bandeira	4,46 <sup>Ab</sup>	5,00 <sup>Aa</sup>	5,03 <sup>Aa</sup>
<b>Cortisol Sérico (<math>\mu\text{g/dl}</math>)</b>			
Manejo	Tempo		
	24	48	72
Tradicional	4,23 <sup>ab</sup>	4,44 <sup>Ba</sup>	4,18 <sup>Cb</sup>
Treinamento	4,42	4,29 <sup>B</sup>	4,46 <sup>B</sup>
Bandeira	4,26 <sup>b</sup>	4,84 <sup>Aa</sup>	4,89 <sup>Aa</sup>

Médias na mesma linha com letras minúsculas iguais são equivalentes; médias na mesma coluna com letras maiúsculas iguais são equivalentes; ( $P \leq 0,05$ ).

Os valores médios de cortisol fecal e sérico apresentaram aumento após a realização dos transportes, conforme mostrado na Tabela 4.3.

Tabela 4.3. Diferenças entre embarque e desembarque nas concentrações de cortisol dos bovinos.

	Cortisol Fecal ( $\mu\text{g/dl}$ )	Cortisol Sérico ( $\mu\text{g/dl}$ )
Embarque	4,02 <sup>B</sup>	4,38 <sup>B</sup>
Desembarque	4,32 <sup>A</sup>	4,51 <sup>A</sup>

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças estatísticas ( $P \leq 0,05$ ).

## 4 DISCUSSÃO

No presente estudo, as médias de cortisol sérico e fecal mais elevadas foram observadas durante a aplicação do manejo pré-embarque com bandeira nas viagens de 48 e 72 horas. Considerando que nesse momento do estudo os animais já haviam passado diversas vezes pelos procedimentos de manejo e transporte, o resultado obtido de cortisol sérico, que é representativo do momento em que está acontecendo o evento estressante, pode ter ocorrido em relação a experiências prévias negativas. A lembrança de experiências prévias, sejam elas negativas ou positivas, propiciam uma resposta fisiológica, sendo que esta afirmação continua sendo intensamente estudada, por produzir reações comportamentais particulares dos animais a certos tipos de manejo, uma vez que os bovinos criam aversões a experiências negativas (Krohn et al., 2001). Segundo Broom e Fraser (2007), algumas experiências são uma consequência de mudanças em níveis hormonais ou de outros aspectos do meio cerebral, sejam físicos ou químicos. Sendo assim, essas experiências resultam de mudanças psicológicas, as quais são consequência de alterações no ambiente externo ou até mesmo interno. Logo, uma experiência gera uma mudança no cérebro como resposta a uma informação adquirida por um evento que foi vivenciado. Portanto, para fazer uma análise mais precisa a respeito do estresse é ideal avaliar uma combinação de parâmetros, entre fisiológicos (cortisol, frequências cardíaca e respiratória) e comportamental (Rushen et al., 2011), já que a resposta do animal a certos agentes pode ser influenciada por características individuais (Clark et al., 1997; Möstl & Palme, 2002).

Após a liberação do cortisol na corrente sanguínea e depois de produzir seus efeitos em diferentes órgãos do animal, este é transformado em metabólitos que serão excretados por via fecal ou urinária. Segundo Möstl e Palme (2002), a concentração máxima dos metabólitos de cortisol encontrados nas excretas variam conforme o tempo de passagem

intestinal, ou seja, de acordo com cada espécie animal e poderia se dizer que dependendo da fisiologia de cada indivíduo, sendo encontrados picos em ruminantes cerca de 12 horas após o evento causador de liberação excessiva de cortisol, em pôneis após 24 horas e suínos cerca de 48 horas depois. Já Morrow e colaboradores (2002) encontraram o maior pico de cortisol fecal de 14 a 18 horas após a inoculação de adrenocorticotropina (ACTH – hormônio que estimula a liberação de cortisol) na veia jugular de vacas leiteiras. Os resultados do presente estudo mostram que os maiores valores de cortisol fecal foram encontrados nos momentos de 48h e 72h de viagem em conjunto com o manejo pré-embarque com utilização de bandeira, o que poderia indicar que houve momento de intenso estresse durante alguns momentos das viagens. Em estudo realizado por Palme e colaboradores (2000), foi encontrado que o pico de concentração de cortisol fecal se deu 12 horas após o início do transporte de bovinos com 2 horas de duração. Assim, conforme descrito anteriormente, é possível que tenha havido um processo de lembrança de experiências negativas prévias, causando maior estresse dos animais nesse momento do estudo, já que esse é um fator determinante de alterações fisiológicas.

Os maiores valores de cortisol ao desembarque quando comparado às médias desse parâmetro ao embarque demonstram que as viagens são, de fato, eventos estressantes, confirmando resultados já encontrados anteriormente por outros estudos (Kent & Ewbank, 1983; Gupta, 2007; Averós, 2008). Schwartzkopf-Genswein e colaboradores (2007) encontraram inclusive que animais não condicionados ao manejo e tempo de transporte apresentaram maiores concentrações de cortisol em comparação a animais previamente condicionados, sendo que dado similar foi esperado neste estudo, porém não encontrado. Dessa forma, os diversos dados evidenciam que o transporte de carga-viva é um agente estressor altamente impactante na homeostase e bem-estar dos animais.

Pelo fato de ter havido interação entre os tipos de manejo e tempos de transporte, não foi possível analisar cada tratamento isoladamente, o que seria o ideal para procurar aspectos de habituação aos tempos de viagem, ou seja, quando o aumento no tempo de transporte deixa de influenciar a liberação de cortisol. Em ocorrência desse caso, apenas a viagem em si seria fator estressante, sendo que os animais acostumar-se-iam ao ambiente e manteriam uma liberação controlada do cortisol, sem que ocorressem aumentos constantes desse glicocorticoide ao longo do tempo (Fazio et al., 2005; Schwartzkopf-Genswein et al., 2007).

## 5 CONCLUSÃO

O transporte rodoviário associado aos seus manejos pré-embarque mostrou ser evento estressante que causa alterações nos níveis de cortisol sérico e fecal dos animais. Os últimos momentos de viagem foram os mais estressantes, sugerindo a ocorrência de associação com experiências prévias negativas. Ainda, a inexistência de relação entre aumento dos tempos de viagem com maior liberação de cortisol sugere a habituação durante o percurso. De qualquer forma, fisiologicamente, especialmente no que se refere à desidratação o maior tempo de viagem mostra-se mais danoso, devendo ser considerado ao se decidir sobre a duração e distâncias a serem percorridas.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AVERÓS, X.; MARTÍN, S.; RIU, M.; SERRATOSA, J.; GOSÁLVEZ, L.F. Stress response of extensively reared young bulls being transported to growing-finishing farms under Spanish summer commercial conditions. **Livestock Science**, v. 119, p.174–182, 2008.

BENTSON, K.L.; CAPITANIO, J.P.; MENDOZA, S.P. Effects of blood sampling, telazon and ketamine on cortisol in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). **American Journal of Primatology**, v. 51, n. 43, 2000.

BROOM, D.M.; FRASER, A.F. **Domestic animal behaviour and welfare**. 4a Edição: CAB International, 2007, 448p.

CLARK, J.D.; RANGER, D.R.; CALPIN, J.P. Animal well-being. **Laboratory of Animal Science**, v. 47, p. 586-597, 1997.

FAZIO, E.; MEDICA, P.; ALBERGHINA, D.; CAVALERI, S.; FERLAZZO, A. Effect of long-distance road transport on thyroid and adrenal function and haematocrit values in Limousin cattle: influence on body weight decrease. **Veterinary Research Communications**, v. 29, p. 713–719, 2005.

FRASER, A.F.; BROOM, D.M. **Farm Animal Behaviour and Welfare**. Ed. Bailliere Tindall. 3a edição, 1990, 437p.

GUPTA, S.; EARLEY, B.; CROWE, M.A. Effect of 12-hour road transportation on physiological, immunological and haematological parameters in bulls housed at different space allowances. **The Veterinary Journal**, v. 173, p. 605–616, 2007.

KENT, J.E.; EWBANK, R. The effect of road transportation on the blood constituents and behaviour of calves six months old. **British Veterinary Journal**, v. 139, 1983.

KROHN, C.C.; JAGO, J.G.; BOIVIN, X. The effect of early handling on the socialization of young calves to humans. **Applied Animal Behaviour Science**, v.74, p. 121-123, 2001.

LEHNINGER, A.L. Hormônios. In: **Princípios de bioquímica**. 2a ed. Editora Savier. São Paulo, 1995, p. 513-536.

MORGAN, K.N.; TROMBORG, C.T. Sources of stress in captivity. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 102, p. 262- 302, 2007.

MORROW, C.J.; KOLVER, E.S.; VERKERK, G.A.; MATTHEWS, L.R. Fecal glucocorticoid metabolites as a measure of adrenal activity in dairy cattle. **General and Comparative Endocrinology**, v. 126, p. 229-241, 2002.

MÖSTL, E.; PALME, R. Hormones as indicators of stress. **Domestic Animal Encocrinology**, v.23, p. 67-74, 2002.

PALME, R.; MÖSTL, E. Measurement of cortisol metabolites in faeces of sheep as a parameter of cortisol concentration in blood. **International Journal of Mammalian Biology**, v. 62, p. 192-197, 1997.

PALME, R.; ROBIA, C.; BAUMGARTNER, W.; MÖSTL, E. Transport stress in cattle as reflected by an increase in faecal cortisol metabolites. **Veterinary Record**, v. 146, p. 108-109, 2000.

PARAMASTRI, Y.; ROYO, F.; EBEROVA, J.; CARLSSON, H.E.; SAJUTHI, D.; FERNSTROM, A.E.; PAMUNGKAS, J.; HAU, J. Urinary and fecal immunoglobulin A,

cortisol and 11-17 dioxoandrostanes, and serum cortisol in metabolic cage housed female cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). **Journal of Medical Primatology**, v. 36, n. 6, p. 355-64, 2007.

PLACE, N.J.; KENAGY, G.J. Seasonal changes in plasma testosterone and glucocorticoids in free-living male yellow-pine chipmunks and the response to capture and handling. **Journal of Comparative Physiology**, v. 170, p. 245– 51, 2000.

ROMERO, L.M.; ROMERO, R.C. Corticosterone responses in wild birds: the importance of rapid initial sampling. **The Condor**, v. 104, p. 129 – 35, 2002.

ROMERO, L.M.; REMAGE-HEALEY, L. Daily and seasonal variation in response to stress in captive starlings (*Sturnus vulgaris*): corticosterone. **General and Comparative Endocrinology**, v. 119, p. 52– 9, 2000.

RUSHEN, J.; BUTTERWORTH, A.; SWANSON, J.C. Animal behavior and well-being symposium: farm animal welfare assurance: science and application. **Journal of Animal Science**, v. 89, p. 1219-1228, 2011.

SAPOLSKY, R.M.; ROMERO, L.M.; MUNCK, A.U. How do glucocorticosteroids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory and preparative actions. **Endocrine Reviews**, v. 21, p. 55–89, 2000.

SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K.S.; BOOTH-MCLEAN, M.E.; SHAH, M.A.; ENTZ, T.; BACH, S.J.; MEARS, G.J.; SCHAEFER, A.L.; COOK, N.; CHURCH, J.; MCALLISTER, T.A. Effects of pre-haul management and transport duration on beef calf performance and welfare. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 108, p. 12–30, 2007.

TILBROOK, A.J.; CLARKE, I.J. Neuroendocrine mechanisms of innate states of attenuated responsiveness of the hypothalamopituitary adrenal axis to stress. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 27, p. 285-307, 2006.

VAN DE KAR, L.D.; RICHARDSON-MORTON, K.D.; RITTENHOUSE, P.A. Stress: neuroendocrine and pharmacological mechanisms. In: Jasmin G, Antin M (Ed.). **Stress revisited**. 1. Neuroendocrinology of stress. New York: Karger, 1991. p. 133-173.

WINGFIELD, J.C.; BREUNER, C.; JACOBS, J. Corticosterone and behavioral responses to unpredictable events. In S. Harvey and R. J. Etches (eds.), Perspectives in avian endocrinology. **Journal of Endocrinology**, p. 267–278, 1997.

## **CAPÍTULO 5**

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora o transporte rodoviário de carga-viva seja uma atividade rotineira e praticamente obrigatória para a indústria da carne, sabe-se que essa atividade é causadora de danos ao bem-estar dos animais e à qualidade final do produto. Os principais processos envolvidos na perda de qualidade e quantidade de carne ao final do sistema de produção são o estresse e a fadiga causados pelo manejo pré-embarque e desembarque, transporte, condições das estradas, conhecimento do motorista acerca da forma de condução de carga-viva. Diversos estudos já comprovaram os danos que esses processos causam, diminuindo o peso vivo do animal devido à desidratação, causando perda energética pela fadiga e estresse, bem como provocando o aparecimento de uma carne de menor qualidade, a qual pode causar problemas no momento da comercialização.

O presente experimento tentou analisar de forma mais precisa a influência do manejo pré-embarque e tempos de transporte nas condições de bem-estar dos bovinos, concluindo que há influência de ambos fatores em inúmeros parâmetros fisiológicos, alterando a homeostase e processos bioquímicos no organismo dos animais envolvidos no processo, o que representaria influência na qualidade do produto final, a carne. Nesse sentido, estudos mais precisos analisando desde o estresse por indicadores comportamentais e fisiológicos até o tempo de descanso após viagem, insensibilização e pH do produto em momentos pós-abate seria o ideal para melhor caracterizar a influência de cada fator e tentar minimizar os danos causados por essa fase final do sistema produtivo.

Portanto, até que as lacunas ainda existentes acerca da influência real de cada atividade na qualidade final da carne bovina sejam desfeitas, sugere-se que seja utilizado o manejo mais gentil possível, que instrumentos auxiliares de condução dos animais (exceto bandeira) caiam em desuso e que o transporte dos indivíduos para abate ocorra por menores

distâncias possíveis. Tudo isso afim de melhorar o bem-estar dos animais, minimizar as perdas quantitativas e qualitativas de produto, bem como econômicas da cadeia de produção.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARTHINGTON, J.D.; EICHER, S.D.; KUNKLE, W.E.; MARTIN, F.G. Effect of transportation and commingling on the acute-phase protein response, growth, and feed intake of newly weaned beef calves. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 1120–1125, 2003.

AVERÓS, X.; MARTÍN, S.; RIU, M.; SERRATOSA, J.; GOSÁLVEZ, L.F. Stress response of extensively reared young bulls being transported to growing-finishing farms under Spanish summer commercial conditions. **Livestock Science**, v. 119, p.174–182, 2008.

BENTSON, K.L.; CAPITANIO, J.P.; MENDOZA, S.P. Effects of blood sampling, telazon and ketamine on cortisol in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). **American Journal of Primatology**, v. 51, n. 43, 2000.

BERNARDINI, D.; GERARDI, G.; PELI, A.; NANNI COSTA, L.; AMADORI, M.; SEGATO, S. The effects of different environmental conditions on thermoregulation and clinical and hematological variables in long-distance road-transported calves. **Journal of Animal Science**, v. 90, p.1183-1191, 2012.

BERNSTEIN, R.E. Nonenzymatically glycation of proteins. **Advanced Clinical Chemistry**, v. 26, p. 1–78, 1987.

BLOKHUIS, H.J.; KEELING, L.J.; GAVINELLI, A.; SERRATOSA, J. Animal welfare's impact on the food chain. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, 2008.

BOISSY, A.; BOUISSOU, M.F. Assessment of individual differences in behaviour reactions of heifers exposed to various fear-eliciting situations. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 46, p. 17-31, 1995.

BONIN, M.N.; FERRAZ, J.B.S.; ELER, J.P.; SILVA, S.L.; REZENDE, F.M.; CUCCO, D.C.; CARVALHO, M.E.; SILVA, R.C.G.; OLIVEIRA, E.C.M. Características de carcaça e qualidade de carne em linhagens da raça Nelore. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.10, p.1860-1866, 2014.

BRASIL – REGULAMENTO DE INSPEÇÃO INDUSTRIAL E SANITÁRIA DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL – RIISPOA. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/Aniamal/MercadoInterno/Requisitos/RegulamentoInspecaoIndustrial.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/MercadoInterno/Requisitos/RegulamentoInspecaoIndustrial.pdf)>. Acesso em 10/04/2015.

BROOM, D.M.; JOHNSON, K.G. **Stress and Animal Welfare**. Ed. Chapman & Hall, 1993, 211p.

BROOM, D.M. Causes of poor welfare in large animals during transport. **Veterinary Research Communications**, v.1, n.27, p. 515 – 518, 2003.

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

BROOM, D.M. The effects of land transport on animal welfare. **Revue scientifique et technique** (International Office of Epizootics), v. 24, p. 683-691, 2005.

BROOM, D.M.; FRASER, A.F. **Domestic animal behaviour and welfare**. 4a Edição: CAB International, 2007, 448p.

BROOM, D.M. Animal welfare: an aspect of care, sustainability, and food quality required by the public. **Journal of Veterinary Medical Education**, v. 37, n 1, p. 83- 88, 2010.

BURROW, H.M. Measurements of temperament and their relationships with performance traits of beef cattle. **Animal Breeding Abstracts**, v. 65, p. 477–495, 1997.

BROWNING, R.JR.; LEITE-BROWNING, M.L. Comparative stress responses to short transport and related events in Hereford and Brahman steers. **Journal of Animal Science**, v.91, p. 957–969, 2013.

CABEZAS, S.; BLAS, J.; MARCHANT, T.A.; MORENO, S. Physiological stress levels predict survival probabilities in wild rabbits. **Hormones and Behavior**, v. 51, p. 313–320, 2007.

CAFAZZO, S.; MAGNANIA, D.; CALÀA, P.; RAZZUOLI, E.; GERARDIC, G.; BERNARDINI, D.; AMADORI, M.; NANNI COSTA, L. Effect of short road journeys on behaviour and some blood variables related to welfare in young bulls. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 139, p. 26– 34, 2012.

CHACON, G.; GARCIA-BELENGUER, S.; VILLARROEL, M.; MARIA, G.A. Effect of transport stress on physiological responses of male bovines. **Dtsch Tierarztl. Wochenschr.**, v. 112, p. 465–469, 2005.

CLARK, J.D.; RANGER, D.R.; CALPIN, J.P. Animal well-being. **Laboratory of Animal Science**, v. 47, p. 586-597, 1997.

COCKRAM, M.S.; KENT, J.E.; JACKSON, R.E.; GODDARD, P.J.; DOHERTY, O.M.; MCGILP, I.M.; FOX, A.; STUDDERT-KENNEDY, T.C.; MCCONNELL, T.I.; O'RIORDAN, T. Effect of lairage during 24 h of transport on the behavioural and physiological responses of sheep. **Animal Science**, v. 65, p. 391–402, 1997.

COSTA, J.N.; BENESI, F.J.; BIRGEL, E.H.; D'ANGELINO, J.L.; AYRES, M.C.C.; BARROS FILHO, I.R. Fatores etários no leucograma de fêmeas zebuínas sadias da raça nelore (*Bos indicus*). **Ciência Rural**, v. 30, n. 3, 2000.

DEHNHARD, M.; SCHREER, A.; KRONE, O.; JEWGENOW, K.; KRAUSE, M.; GROSSMANN, R. Measurement of plasma corticosterone and fecal glucocorticoid metabolites in the chicken (*Gallus domesticus*), the great cormorant (*Phalacrocorax carbo*), and the goshawk (*Accipiter gentilis*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 131, p. 345–352, 2003.

DELGADO, C.L. Rising consumption of meat and milk in developing countries has created a new food revolution. **The Journal of Nutrition**, p. 3907–3910, 2003.

DIXIT, V.D.; MARAHRENS, M.; PARVIZI, N. Transport stress modulates adrenocorticotrophin secretion from peripheral bovine lymphocytes. **Journal of Animal Science**, v.79, p. 729–734, 2001.

EARLEY, B.; FISHER, A.D.; O’RIORDAN, E.G. Effects of pre-transport fasting on the physiological responses of young cattle to 8 h road transport. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, v. 45, p. 51–60, 2006.

EARLEY, B.; O’RIORDAN, E.G. Effects on transporting bulls at different space allowances on physiological, haematological and immunological responses to a 12 h journey by road. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, v. 45, p. 39 – 50, 2006.

EARLEY, B.; MURRAY, M.; PRENDIVILLE, D.J.; PINTADO, B.; BORQUE, C.; CANALI, E. The effect of transport by road and sea on physiology, immunity and behaviour of beef cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 92, p. 531–541, 2012.

EARLEY B.; DRENNAN M.; O’RIORDAN E.G. The effect of road transport in comparison to a novel environment on the physiological, metabolic and behavioural responses of bulls. **Research in Veterinary Science**, v. 95, p. 811–818, 2013.

FAZIO, E.; MEDICA, P.; ALBERGHINA, D.; CAVALERI, S.; FERLAZZO, A. Effect of long-distance road transport on thyroid and adrenal function and haematocrit values in Limousin cattle: influence on body weight decrease. **Veterinary Research Communications**, v. 29, p. 713–719, 2005.

FELL, L.R.; COLDITZ, I.G.; WALKER, K.H.; WATSON, D.L. Associations between temperament, performance and immune function in cattle entering a commercial feedlot. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 39, p. 795–802, 1999.

FERGUSON, D. M.; WARNER, R. D. Have we underestimated the impact of pre-slaughter stress on meat quality in ruminants? **Meat Science**, v.80, p. 12-19, 2008.

FERREIRA, F.; CAMPOS, W.E.; CARVALHO, A.U.; PIRES, M.F.A.; MARTINEZ, M.L.; SILVA, M.V.G.B.; VERNEQUE, R.S.; SILVA, P.F. Parâmetros clínicos, hematológicos, bioquímicos e hormonais de bovinos submetidos ao estresse calórico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.4, p.769-776, 2009.

FIGUEIREDO, L.G.G.; ELER, J.P.; MOURÃO, G.B.; FERRAZ, J.B.S.; BALIEIRO, J.C.C.; MATTOS, E.C. Análise genética do temperamento em uma população da raça Nelore. **Livestock Research for Rural Development**, v. 17, 2005.

FRANCHI, G. A.; NUNES, M. L. A.; GARCIA, P. R.; SILVA, I. J. O. Percepção do mercado consumidor de Piracicaba em relação ao bem-estar dos animais de produção. **Pubvet**, v. 6, n. 11, ed. 198, 15 p., 2012.

FRASER, A.F.; BROOM, D.M. **Farm Animal Behaviour and Welfare**. Ed. Bailliere Tindall. 3a Edição, 1990, 437p.

GARCIA, L.G.; NICHOLSON, K.L.; HOFFMAN, T.W.; LAWRENCE, T.E.; HALE, D.S.; GRIFFIN, D.B.; SAVELL, J.W.; VAN OVERBEKE, D.L.; MORGAN, J.B.; BELK, K.E.; FIELD, T.G.; SCANGA, J.A.; TATUM, J.D.; SMITH, G.C.. National Beef Quality Audit-2005: Survey of targeted cattle and carcass characteristics related to quality, quantity, and value of fed steers and heifers. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 3533–3543, 2008.

GEORGE, J.W.; SNIPES, J.; LANE, V.M. Comparison of bovine hematology reference intervals from 1957 to 2006. **Veterinary Clinical Pathology**, v.39, p.138–148, 2010.

GRANDIN, T. Assessment of stress during handling and transport. **Journal of Animal Science**, v.75, p.249-257, 1997.

GRANDIN, T. **Livestock Handling and Transport**. Oxford. 2<sup>a</sup> Ed. CAB International, 2000. 459 p.

GRANDIN, T. Transferring results of behavioral research to industry to improve animal welfare on the farm, ranch and the slaughter plants. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 81, p. 215–228, 2003.

GRANDIN, T. **Humane Livestock Handling: Understanding livestock behavior and building facilities for healthier animals**, Storey Publishing, 2008, 227p.

GRANDIN, T. Animal welfare and society concerns finding the missing link. **Meat Science**, v. 98, p. 461–469, 2014.

GREATOREX, J.C. Studies on the haematology of calves from birth to one year of age. **British Veterinary Journal**, v.110, p.1220-1238, 1954.

GRIGOR, P.N.; GODDARD, P.J.; LITTLEWOOD, C.A.; WARRISS, P.D.; BROWN, S.N. Effects of preslaughter handling on the behaviour, blood biochemistry and carcasses of farmed red deer. **Veterinary Record**, London, v.144, p.223-227, 1999.

GRUBER, S.L.; TATUM, J.D.; ENGLE, T.E.; CHAPMAN, P.L.; BELK, K.E.; SMITH, G.C. Relationships of behavioral and physiological symptoms of preslaughter stress to beef longissimus muscle tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 1148–1159, 2010.

GUPTA, S.; EARLEY, B.; CROWE, M.A. Effect of 12-hour road transportation on physiological, immunological and haematological parameters in bulls housed at different space allowances. **The Veterinary Journal**, v.173, p. 605–616, 2007.

HENCHION, M.; CARTHY, M.M.; RESCONI, V.C.; TROY, D. Meat consumption: Trends and quality matters. **Meat Science**, v. 98, p. 561–568, 2014.

HERNANDES, J.F.M.; RUBIN, L.S.; DILL, M.D.; OLIVEIRA, S.M.; SILVA, T.N. Bem-estar animal na cadeia produtiva bovina: da propriedade rural ao abate. Campo Grande, 25 a 28 de julho de 2009, **Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural**.

HÖTZEL, M.J.; MACHADO FILHO, L.C.P. Bem-estar Animal na Agricultura do Século XXI. **Revista de Etologia**, v.6, n.1, p. 03-15, 2004.

HUBER, S.; PALME, R.; ARNOLDA, W. Effects of season, sex, and sample collection on concentrations of fecal cortisol metabolites in red deer (*Cervus elaphus*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 130, p. 48–54, 2003.

HULBERT, L.E.; CARROLL, J.A.; BURDICK, N.C.; RANDEL, R.D.; BROWN, M.S.; BALLOU, M.A. Innate immune responses of temperamental and calm cattle after transportation. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 143, p. 66–74, 2011.

ISHIZAKI, H.; KARIYA, Y. Road transportation stress promptly increases bovine peripheral blood absolute NK cell counts and cortisol levels. **Journal of Veterinary Medicine Science**, v.72, p.747-753, 2010.

JAIN, C.N. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.417 p.

JENSEN, A.L. Serum fructosamine in canine diabetes mellitus: An initial study. **Veterinary Research Communications**, v. 16, p. 1 – 9, 1992.

JONES, M.L.; ALLISON, R.W. Evaluation of the Ruminant Complete Blood Cell Count. **Veterinary Clinics Food Animal Practice**, v. 23, p. 377–402, 2007.

KANEKO, J.J.; HARVEY, D.W.; BRUSS, W.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5th ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932 p.

KANEKO, J.J., HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6<sup>th</sup> ed. San Diego: Academic Press. 2008, 916p.

KENT, J.E.; EWBANK, R. The effect of road transportation on the blood constituents and behaviour of calves six months old. **British Veterinary Journal**, v. 139, p. 228-235, 1983.

KNOWLES, T.G.; WARRISS, P.D. Stress physiology of animals during transport. In: T. Grandin, Editor, **Livestock handling and transport**, Cabi Publishing, Oxon, UK, 2000. p. 385–407.

KROHN, C.C.; JAGO, J.G.; BOIVIN, X. The effect of early handling on the socialization of young calves to humans. **Applied Animal Behaviour Science**, v.74, p. 121-123, 2001.

LEHNINGER, A.L. Hormônios. In: **Princípios de bioquímica**. 2a ed. Editora Savier. São Paulo, 1995, p. 513-536.

LENSINK, B.J.; FERNANDEZ, X.; COZZI, G.; FLORAND, L.; VEISSIER, I. The influence of farmers' behavior on calves' reactions to transport and quality of veal meat. **Journal of Animal Science**, v. 79, p.642-652, 2001.

LJUNGBERG, D; GEBRESENBET, G; ARADOM, S. Logistics Chain of Animal Transport and Abattoir Operations. **Animal Production Technology - Biosystems Engineering**, v. 96, n. 2, p. 267–277, 2007.

LOGUE, D.N.; MAYNE, C.S. Welfare-positive management and nutrition for the dairy herd: A European perspective. **The Veterinary Journal**, v. 199, p. 31–38, 2014.

LOPES, S.T.A.; BIONDO, A.W.; SANTOS, A.P. **Manual de patologia clínica veterinária**. 3a ed. Departamento de Clínica de Pequenos Animais, UFSM. 2007. 107p.

MARAHRENS, M.; KLEINSCHMIDT, N.; DI NARDO, A.; VELARDE, A.; FUENTES, C.; TRUAR, A.; OTERO, J.L.; DI FEDE, E.; DALLA VILLA, P. Risk assessment in animal welfare – Especially referring to animal transport. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 102, p. 157– 163, 2011.

MORATO, R.G.; BUENO, M.G.; MALMHEISTER, P.; VERRESCHI, I.T.N.; BARNABE, R. C. Changes in the fecal concentrations of cortisol and androgen metabolites in captive male jaguars (*Panthera onca*) in response to stress. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, p. 1903-1907, 2004.

MORGAN, K.N.; TROMBORG, C.T. Sources of stress in captivity. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 102, p. 262- 302, 2007.

MORROW, C.J.; KOLVER, E.S.; VERKERK, G.A.; MATTHEWS, L.R. Fecal glucocorticoid metabolites as a measure of adrenal activity in dairy cattle. **General and Comparative Endocrinology**, v. 126, p. 229-241, 2002.

MÖSTL, E.; PALME, R. Hormones as indicators of stress. **Domestic Animal Encocrinology**, v.23, p. 67-74, 2002.

NICHOLSON, J.D.W.; NICHOLSON, K.L.; FRENZEL, L.L.; MADDOCK, R.J.; DELMORE JR.R.J.; LAWRENCE, T.E.; HENNING, W.R.; PRINGLE, T.D.; JOHNSON, D.D.; PASCHAL, J.C.; GILL, R.J.; CLEERE, J.J.; CARPENTER, B.B.; MACHEN, R.V.; BANTA, J.P.; HALE, D.S.; GRIFFIN, D.B.; SAVELL, J.W. Survey of transportation procedures, management practices, and health assessment related to quality, quantity, and value for market beef and dairy cows and bulls. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 5026–5036, 2013.

NIELSEN, B.L.; DYBKJAER, L.; HERSKIN, M.S. Road transport of farm animals: effects of journey duration on animal welfare. **Animal**, v. 3, p. 415–427, 2011.

ODORE, R.; BADINO, P.; RE, G.; BARBERO, R.; CUNIBERTI, B.; D'ANGELO, A.; GIRARDI, C.; TARANTOLA, M. Effects of housing and short-term transportation on hormone and lymphocyte receptor concentrations in beef cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 90, p. 341–345, 2011.

PALME, R.; MÖSTL, E. Measurement of cortisol metabolites in faeces of sheep as a parameter of cortisol concentration in blood. *International Journal of Mammalian Biology*, v. 62, p. 192-197, 1997.

PALME, R.; ROBIA, C.; BAUMGARTNER, W.; MÖSTL, E. Transport stress in cattle as reflected by an increase in faecal cortisol metabolites. **Veterinary Record**, v. 146, p. 108-109, 2000.

PARAMASTRI, Y.; ROYO, F.; EBEROVA, J.; CARLSSON, H.E.; SAJUTHI, D.; FERNSTROM, A.E.; PAMUNGKAS, J.; HAU, J. Urinary and fecal immunoglobulin A, cortisol and 11-17 dioxoandrostanes, and serum cortisol in metabolic cage housed female cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). **Journal of Medical Primatology**, v. 36, n. 6, p. 355-64, 2007.

PARANHOS DA COSTA, M.J.R.; HUERTAS, S.M.; STRAPPINI, A.C.; GALLO, C. **Handling and transport of cattle and pigs in South American**. In T. Grandin (Ed.), *Livestock handling and transport* (pp. 174–192) (4th ed.). Wallingford, Oxfordshire, UK: CABI International. 2014.

PLACE, N.J.; KENAGY, G.J. Seasonal changes in plasma testosterone and glucocorticoids in free-living male yellow-pine chipmunks and the response to capture and handling. **Journal of Comparative Physiology**, v. 170, p. 245–51, 2000.

PETHERICK, J.C.; DOOGAN, V.J.; VENUS, B.K.; HOLROYD, R.G.; OLSSON, P. Quality of handling and holding yard environment, and beef cattle temperament: Consequences for stress and productivity. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 120, p. 28–38, 2009.

PETTIFORD, S.G.; FERGUSON, D.M.; LEA, J.M.; LEE, C.; PAULL, D.R.; REED, M.T. The effect of loading practices and 6 hour road transport on the physiological responses of yearling cattle. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 48, p. 1–6, 2008.

PHIL, L.; HAU, J. Faecal corticosterone and immunoglobulin A in young adult rats. **Laboratory Animal**, v. 37, p. 166–71, 2003.

POLIZOPOULOU, Z.S. Haematological tests in sheep health management. **Small Ruminant Research**, v. 92, p. 88–91, 2010.

RICHARDSON, C. Reducing cattle shrink. Ministry Of Agriculture, Food And Rural Affairs. **Animal Science**. Order no. 05-063, 2005.

ROÇA, R.O. Abate humanitário: manejo ante-mortem. **Revista TeC Carnes**. Campinas, SP, v.3, n.1, p.7-12, 2001.

ROMERO, L.M.; ROMERO, R.C. Corticosterone responses in wild birds: the importance of rapid initial sampling. **The Condor**, v. 104, p. 129 – 35, 2002.

ROMERO, L.M.; REMAGE-HEALEY, L. Daily and seasonal variation in response to stress in captive starlings (*Sturnus vulgaris*): corticosterone. **General and Comparative Endocrinology**, v. 119, p. 52– 9, 2000.

RUSHEN, J.; BUTTERWORTH, A.; SWANSON, J.C. Animal behavior and well-being symposium: farm animal welfare assurance: science and application. **Journal of Animal Science**, v. 89, p. 1219-1228, 2011.

RUSSELL, K.E.; ROUSSEL, A.J. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practices**, v. 23, p. 403-426, 2007.

SAPOLSKY, R.M.; ROMERO, L.M.; MUNCK, A.U. How do glucocorticosteroids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory and preparative actions. **Endocrine Reviews**, v. 21, p. 55–89, 2000.

SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K.S.; BOOTH-MCLEAN, M.E.; SHAH, M.A.; ENTZ, T.; BACH, S.J.; MEARS, G.J.; SCHAEFER, A.L.; COOK, N.; CHURCH, J.; MCALLISTER, T.A. Effects of pre-haul management and transport duration on beef calf performance and welfare. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 108, p. 12–30, 2007.

SILVEIRA, I.D.B.; FISCHER, V.; SOARES, G.J.D. Relação entre o genótipo e o temperamento de novilhos em pastejo e seu efeito na qualidade da carne. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.519-526, 2006.

SPORER, K.R.B.; WEBER, P.S.D.; BURTON, J.L.; EARLEY, B.; CROWE, M.A. Transportation of young beef bulls alters circulating physiological parameters that may be effective biomarkers of stress. **Journal of Animal Science**, v. 86, p.1325-1334, 2008.

STANGER, K.J.; KETHEESAN, N.; PARKER, A.J.; COLEMAN, C.J.; LAZZARONI, S.M.; FITZPATRICK, L.A. The effect of transportation on the immune status of *Bos indicus* steers. **Journal of Animal Science**, v. 83, p.2632–2636, 2005.

STOCKMAN, C.A.; COLLINS, T.; BARNES, A.L.; MILLER, D.; WICKHAM, S.L.; BEATTY, D.T.; BLACHE, D.; FLEMING, P.A. Qualitative behavioural assessment and quantitative physiological measurement of cattle naïve and habituated to road transport. **Animal Production Science**, v. 51, p. 240–249, 2011.

STRAPPINI, A.C.; METZ, J.H.M.; GALLO, C.B.; KEMP, B. Origin and assessment of bruises in beef cattle at slaughter. **Animal**, v. 3, p. 728–736, 2009.

STRIER, K.B.; ZIEGLER, T.E. Advances in Field-Based Studies of Primate Behavioral Endocrinology. **American Journal of Primatology**, v. 67, p. 1–4, 2005.

SWANSON, J.C.; MORROW-TESCH, J. Cattle transport: historical, research and future perspectives. **Journal of Animal Science**, v. 79, p.102–109, 2001.

TADICH, N.; GALLO, C.; BUSTAMANTE, H.; SCHWERTER M.; VAN SCHAİK, G. Effects of transport and lairage time on some blood constituents of Friesian-cross steers in Chile. **Livestock Production Science**, v. 93, p. 223–233, 2005.

TARRANT, P.V.; KENNY, F.J.; HARRINGTON, D. The effect of stocking density during 4 hour transport to slaughter on behaviour, blood constituents and carcass bruising in Friesian steers. **Meat Science**, v. 24, p. 209–222, 1989.

TARRANT, P.V.; KENNY, F.J.; HARRINGTON, D.; MURPHY, M. Long distance transportation of steers to slaughter: Effect of stocking density on physiology, behaviour and carcass quality. **Livestock Production Science**, v. 30, p. 223–238, 1992.

TEKE, B.; AKDAG, F.; EKIZ, B.; UGURLU, M. Effects of different lairage times after long distance transportation on carcass and meat quality characteristics of Hungarian Simmental bulls. **Meat Science**, v. 96, p. 224–229, 2014.

THRALL, M.A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 1ª edição: São Paulo, Roca, 2007. 582p.

TILBROOK, A.J.; CLARKE, I.J. Neuroendocrine mechanisms of innate states of attenuated responsiveness of the hypothalamopituitary adrenal axis to stress. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 27, p. 285-307, 2006.

UETAKE, K.; ISHIWATA, T.; TANAKA, T.; SATO, S. Physiological responses of young cross-bred calves immediately after long haul road transportation and after one week of habituation. **Animal Science Journal**, v.80, p. 705–708, 2009.

VAN DE KAR, L.D.; RICHARDSON-MORTON, K.D.; RITTENHOUSE, P.A. Stress: neuroendocrine and pharmacological mechanisms. In: Jasmin G, Antin M (Ed.). **Stress revisited**. 1. Neuroendocrinology of stress. New York: Karger, 1991. p. 133-173.

VAN DE WATER, G.; VERJANS, F.; GEERS, R. The effect of short distance transport under commercial conditions on the physiology of slaughter calves, pH and colour profiles of veal. **Livestock Production Science**, v. 82, p. 171–179, 2003.

VOISINET, B.D.; GRANDIN, T.; TATUM, J.D.; O'CONNOR, S.F.; STRUTHERS, J.J. Feedlot cattle with calm temperaments have higher average daily gains than cattle with excitable temperaments. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 892–896, 1997.

WINGFIELD, J.C.; BREUNER, C.; JACOBS, J. Corticosterone and behavioral responses to unpredictable events. In S. Harvey and R. J. Etches (eds.), Perspectives in avian endocrinology. **Journal of Endocrinology**, p. 267–278, 1997.

WOIWODE, R.; GRANDIN, T. **Survey shows feedlots dedicated to calm handling of cattle**, Beef. <[www.beefmagazine.com](http://www.beefmagazine.com)>. 2014. Acesso em 20/05/2015.

ZANELLA, A.J. **Tendências e desafios relacionados ao bem-estar animal**, Concordia, 2007.  
Disponível em:  
<[http://www.cnpsa.embrapa.br/wahumano/palestras/Zanella\\_Tendenciasedesafiosparaobem-estaranimal.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/wahumano/palestras/Zanella_Tendenciasedesafiosparaobem-estaranimal.pdf)> Acesso em 13/05/2015.